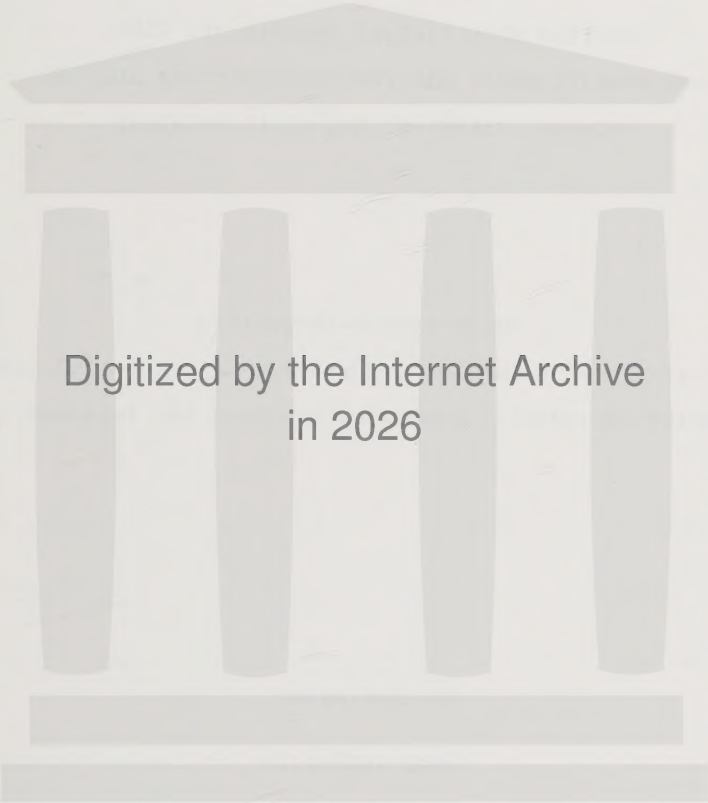


ÜBER DIE WIRKUNG ZWEIWER TIGER KATIONEN
AUF DIE KONTRAKTIONSKRAFT DES WARMBLÜTERHERZENS
IN CA-HALTIGEN UND CA-FREIEN LÖSUNGEN

vorgelegt von

HILDEGARD WANDT

1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554425_0126

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz

(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky)

ÜBER DIE WIRKUNG ZWEIWERTIGER KATIONEN
AUF DIE KONTRAKTIONSKRAFT DES WARMBLÜTERHERZENS
IN CA-HALTIGEN UND CA-FREIEN LÖSUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen
Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

HILDEGARD WANDT

aus

Wiesbaden

M a i n z 1970



Dekan: Prof. Dr. P. Schölmerich

Referent: Prof. Dr. G. Kuschinsky

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Januar 1971



gesamtherstellung
ditters bürodienst
mainz

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einführung	1
B. Fragestellung	3
C. Methode	4
I. Präparate	4
II. Lösungen	4
III. Versuchsanordnung	7
IV. Versuchsablauf	8
V. Auswertung und statistische Bearbeitung	10
D. Ergebnisse	12
I. Inotrope Wirkung zweiwertiger Ionen in Ca-haltiger Tyrodelösung	12
II. Zweiwertige Ionen als Ca-Ersatz in Ca-freier Tyrodelösung	14
1. Ca-Entzug	15
2. Ca-Ersatz	16
a) Kontrollversuche	16
b) Ionenwirkungen	18
α) Strontium	18
β) Barium	25
γ) Magnesium	29
δ) Mangan	31
ε) Nickel und Kobalt	33
ζ) Zink und Quecksilber	33
E. Diskussion	35
F. Zusammenfassung	48
G. Literaturverzeichnis	50

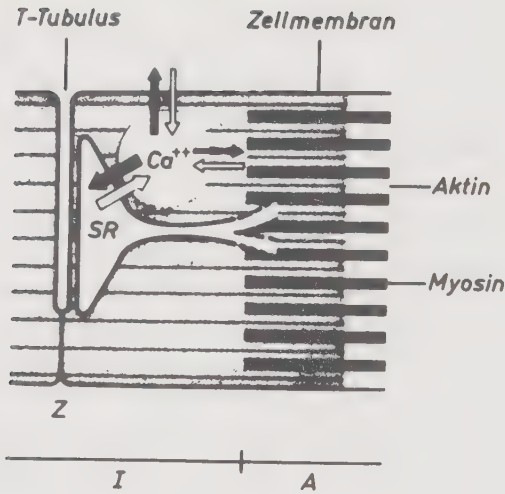
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

MSV:	Meerschweinchenvorhof
KT:	Kalbstrabekel
$[Ca]_e$:	Ca-Konzentration in der Badlösung
$[Ca]_i$:	Intrazelluläre Ca-Konzentration
EMK:	Elektro-mechanische Kopplung
SR:	Sarkoplasmatisches Retikulum
AP:	Aktionspotential
RP:	Ruhepotential
KA:	Kontraktionsamplitude
K:	Kontraktur
M/l:	Mol pro Liter
mM/l:	Millimol pro Liter
ml:	Milliliter
g:	Gramm
mg:	Milligramm
min:	Minute
sec:	Sekunde
msec:	Millisekunde
cm:	Zentimeter
Hz:	Hertz = Impulse pro min

A. EINFÜHRUNG

Für die Kopplung zwischen Erregung und Kontraktion sind am Skelettmuskel und am Herzen Ca-Ionen unerlässlich. Es besteht Einigkeit darüber, daß es an beiden Strukturen zur Kontraktion kommt, wenn die Konzentration an intrazellulären freien Ca^{++} einen Wert von $10^{-7} - 10^{-6}$ M/l überschreitet und zur Erschlaffung, wenn dieser Wert wieder unterschritten wird (PORTZEHL u. Mitarb., 1964; SANDOW, 1965; LANGER, 1968; EBASHI u. ENDO, 1968; PORTZEHL u. Mitarb., 1969). Die Erhöhung der $[\text{Ca}]_i$ während der Erregung erfolgt am Herzmuskel entweder durch einen Ca-Einstrom aus dem Extrazellulärraum oder durch Ca-Freisetzung aus dem SR (LÜTTGAU, 1965; NAYLER, 1967; LANGER, 1968). Das freigesetzte Ca aktiviert die kontraktile Proteine und führt somit zur Kontraktion (WEBER u. Mitarb., 1963; LÜTTGAU, 1965). Diese Vorgänge sind in Abb. 1 schematisch dargestellt. Zur Erschlaffung kommt es, wenn Ca vom SR wieder gespeichert oder über im einzelnen noch unbekannte Mechanismen aus der Zelle heraustransportiert wird (LÜTTGAU, 1968). Wenn die Speicherkapazität des SR für Ca überschritten wird, z.B. bei sehr hoher $[\text{Ca}]_e$ (HASSELBACH u. WEBER, 1965), kommt es zu einer bleibenden Erhöhung der $[\text{Ca}]_i$ und als Folge davon zu einer bleibenden Verkürzung des Muskels, zur Kontraktur (NAYLER, 1965).

Die Frage, ob und an welcher Stelle der zur Kontraktion führenden Mechanismen Ca durch andere zweiwertige Ionen ersetzbar ist, wurde schon vielfach untersucht. So wurden z.B. Sr und Ba mit Mikropipetten in einzelne Muskelzellen injiziert (HEILBRUNN u. WIERCINSKI, 1947; CALDWELL u. WALSTER, 1963). Außerdem wurden zweiwertige Ionen zusätzlich zu Ca in die Badlösung gegeben und Veränderungen der bioelektrischen Membranvorgänge (z.B. RP, AP, Membranwiderstand) und der mechanischen Aktivität registriert



Schema n. GERTZ u. Mitarb. 1967

Abb. 1

Ca-Austausch zwischen dem myoplasmatischen Raum einerseits und dem sarkoplasmatischen Retikulum, den kontraktilen Proteinen und dem Extrazellulärraum andererseits.

Actin und Myosin: kontraktile Proteine

T-Tubulus: transversaler Tubulus

SR: sarkoplasmatisches Retikulum

Ca⁺⁺: intrazelluläres, freies Calcium im myoplasmatischen Raum

I: isotroper Abschnitt der Myofibrillen

A: anisotroper Abschnitt der Myofibrillen

Z: Quermembran im I-Abschnitt

(glatte Muskulatur: YUKISADA u. EBASHI, 1961; SPERELAKIS, 1963; Skelettmuskulatur: SANDOW u. ISAACSON, 1966; SPERELAKIS u. Mitarb., 1967; Herzmuskulatur: JÄGER, 1951; ANTONI u. ÜBERDISSE, 1965; NAYLER, 1965; KLEINFELD u. Mitarb., 1966).

Aber auch die Möglichkeit, Ca ganz durch andere zweiwertige Ionen zu ersetzen, wurde an verschiedenen Systemen geprüft. Das gilt für die bioelektrischen Vorgänge an der Zellmembran (glatte Muskulatur: HILTA u. TSUKUI, 1968; Skelettmuskulatur: SPERELAKIS u. Mitarb., 1967; Herzmuskel: NAYLER, 1965; BRUTSAERT, 1967), für das sarkoplasmatische Retikulum des Skelett- (AMAI u. Mitarb., 1965) und Herzmuskels (CARSTEN, 1967), für die kontraktilen Proteine (SEIBEL u. SERGELY, 1963) und für Skelettmuskelmikrodomäne (CARVALHO, 1965). Dabei ergibt sich insgesamt, daß Ca nur durch Sr und Ba und auch nur teilweise ersetzbar ist.

3. FRAGESTELLUNG

Über die Wirkung zweiwertiger Ionen auf den Herzmuskel des Kalt- und Warmblüters bestehen sich widersprechende Angaben. Deshalb sollten in der vorliegenden Arbeit eine große Anzahl zweiwertiger Ionen in ihrer Wirkung auf die Kontraktilität der Vorhofmuskulatur des Meerschweinchens in Calciumhaltiger Lösung untersucht werden, und zwar Strontium, Barium, Magnesium, Mangan, Nickel, Kobalt, Zink und Quecksilber. Außerdem sollte für diese Ionen am Meerschweinchen-Vorhof und teilweise auch an ventrikulären Trabekeln des Kalbsherzens geprüft werden, ob in ihrer Gegenwart in Calciumfreier Lösung regelrechte Kontraktionen möglich sind, ob sie also Ca bei der Aktivierung der Kontraktion ersetzen können.

C. METHODE

I. Präparate

1. Isolierte linke Vorhöfe von Meerschweinchen beiderlei Geschlechts. Die Tiere wogen 320 - 380 g, die getrockneten Vorhöfe $32,1 \pm 0,46$ mg ($n = 217$), das sind $22,5 \pm 0,22$ % des Feuchtgewichtes. Die Meerschweinchen wurden durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet. Aus dem geöffneten Thorax wurde sofort das ganze Herz herausgenommen, der linke Vorhof bei Zimmertemperatur in carbogengesättigter Tyrodelösung abpräpariert und in einem mit der gleichen Lösung von 35°C gefüllten Organbad befestigt.

2. Isolierte dünne Trabekel (Länge: 0,5 - 1 cm, Trockengewicht: $2,95 \pm 0,28$ mg ($n = 22$), das sind $31,85 \pm 2,94$ % des Feuchtgewichtes) aus dem rechten Ventrikel von Kalbsherzen, die in kalter (ca. 4°C) Tyrodelösung in Dewargefäßen vom Schlachthof in das Laboratorium gebracht wurden. Auch diese Präparate wurden in carbogengesättigter Tyrodelösung bei Zimmertemperatur präpariert und in einem mit der gleichen Lösung gefüllten Organbad befestigt. Der Zeitraum zwischen dem Tod der Tiere und dem Ende der Präparation betrug beim Meerschweinchen 5 - 10 min und beim Kalb nicht mehr als 1 Stunde.

II. Lösungen

Die Zusammensetzung der für die Versuche verwendeten Badlösungen zeigt Tabelle 1. Die Ca-Konzentrationen wurden ohne osmotischen Ausgleich zwischen 0 und 7,2 mM/l variiert. Folgende Metalle wurden in ihrer zweiwertigen Form untersucht: Strontium, Barium, Magnesium, Mangan, Nickel, Kobalt, Zink und Quecksilber. Sie wurden als Chloride von

Lösung	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻	HCl ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	Tris- puffer	Glukose	Gegasun
1. Tyrodelösung	149,3	5,4	1,05	1,8	148	11,9	0,42	5,5	95% O ₂ + 5% CO ₂
2. Tyrodelösung ohne Phosphat- puffer	148,9	5,4	1,05	1,8	148	11,9	-	5,5	95% O ₂ + 5% CO ₂
3. Tristyrode- lösung	137	5,4	1,05	1,8	148	-	5	5,5	100% O ₂

Tabelle 1

Zusammensetzung der Badlösungen (mm./l)

der Firma Merck in p.a.-Qualität bezogen. Im weiteren Verlauf werden die Ionen folgendermaßen abgekürzt: Sr, Ba, Mg, Mn, Ni, Co, Zn und Hg. Die Chloride wurden in geeigneter Konzentration in destilliertem Wasser gelöst. Die Titration der angesetzten Stammlösungen erfolgte bei Sr, Mg, Mn und Hg nach der Methode von MOHR (s. JANDER u. Mitarb., 1963), bei Ni, Ba und Co nach der Methode von KUSCHINSKY u. LANG-ECKER (1948). Die Zn-Lösung wurde nicht titriert, da Zn in wässriger Lösung bei Konzentrationen unter 50 % einen unlöslichen Niederschlag bildete.

In normaler Tyrodelösung bildeten Mn mit dem Phosphatpuffer und Ni, Co und Zn mit dem Bicarbonatpuffer unlösliche Niederschläge. Deshalb wurde, wie Tabelle 2 zeigt, für die Versuchsreihe mit Mn Tyrodelösung ohne Phosphatpuffer (Lösung 2) verwendet. Bei Ni, Co und Zn wurden der Phosphat- und der Bicarbonatpuffer durch Trispuffer^x ersetzt (Lösung 3).

Tabelle 2

Übersicht über die bei der Untersuchung der einzelnen Ionen verwendeten Badlösungen

	Sr	Ba	Mg	Mn	Ni	Co	Zn	Hg
Tyrodelösung	x	x	x					x
Tyrodelösung ohne Phosphatpuffer				x				
Tristyrodelösung					x	x	x	

x: Tris(hydroxymethyl)-aminomethan + HCl

Die Begasung erfolgte bei Lösung 1 und 2 mit Carbogen (95 % O_2 + 5 % CO_2), bei Lösung 3 mit 100 % O_2 . Das pH lag zwischen 7,36 und 7,38. Sämtliche Ionen wurden dem Organbad direkt und ohne osmotischen Ausgleich zugesetzt. Das zugesetzte Volumen betrug nicht mehr als 2 % der Badflüssigkeit.

Ca-freie Lösungen enthielten teilweise EGTA^x in einer Endkonzentration von 5×10^{-5} M/l. EGTA wurde in einer Konzentration von 10^{-3} M/l ebenfalls in destilliertem Wasser gelöst und der Badflüssigkeit ohne osmotischen Ausgleich zugesetzt.

III. Versuchsanordnung

Das Organbad hatte ein Fassungsvermögen von 70 ml. Die Badlösung wurde vom Boden des Gefäßes mit Carbogen bzw. O_2 durchperlt und durch einen Wassermantel, der an ein durch einen Thermostaten reguliertes Wasserbad angeschlossen war, auf einer Temperatur von 35°C gehalten. Die Reizelektroden aus Platindraht wurden von oben in das Organbad geleitet. Je ein Faden war am Präparat an zwei entgegengesetzten Enden angeschlungen; der untere Faden fixierte das Präparat zwischen den beiden Polen der Reizelektrode, der obere war an einem Dehnungsmeßstreifen (Grass FT o3) befestigt, auf den dadurch die Verkürzungen des Präparates isometrisch übertragen wurden. Vom Dehnungsmeßstreifen wurde die in elektrische Impulse umgeformte mechanische Auslenkung auf einen Direktschreiber (Hellige Helco Scriptor) weitergeleitet, der die Amplitude und den Verlauf der Verkürzungen auf einem Papierstreifen aufzeichnete. Ein zweites Organbad stand für jedes Präparat zur Verfügung, so daß dieses bei Lösungswechsel innerhalb

x: Aethylenglykol-bis-(2-aminoethyl)-tetraessigsäure

von 1 - 2 sec von einer Lösung in die andere umgehängt werden konnte.

IV. Versuchsablauf

Zu Beginn jeden Versuches wurde zunächst der Direktschreiber geeicht, indem der Dehnungsmeßstreifen mit 1 g-Gewichten ausgelenkt wurde. Danach erhielten die Vorhöfe, die sich ebenso wie die Trabekel unabhängig vom weiteren Versuchsverlauf in normaler Tyrodelösung befanden, eine Vorspannung von 1 g, die Trabekel eine Vorspannung von 0,5 g. Die Vorspannung wurde über einen Verlauf von 10 min nachreguliert. Bei angeschalteter Reizung wurden anschließend die Präparate etwa 30 min in normaler Tyrodelösung äquilibriert. Nach dieser Zeit änderte sich die Kontraktionsamplitude nicht mehr.

Die genauen Daten der Reizung waren:

	Frequenz	Reizdauer	Reizstärke
Vorhof	3 Hz	3 msec	supramaximal
Trabekel	1 Hz	3 msec	supramaximal

In Versuchsserie I wurde am MSV die Wirkung der Ionen auf die Kontraktionskraft in Gegenwart von Ca untersucht. Wenn sich ein Plateau in der KA eingestellt hatte, wurden die vorbereiteten Ionenlösungen in das Organbad gegeben. Von Effekt zu Effekt wurde die Konzentration jeweils um das 2- bzw. 5-fache gesteigert. Die niedrigste Konzentration war für jedes Ion verschieden. Sie wurde so gewählt, daß

sich die KA des Vorhofes gerade noch nicht veränderte. Nach jedem Effekt, der jeweils 10 min dauerte, wurde der Vorhof 3 - 5 mal in normaler Tyrodelösung gespült, bis sich die KA wieder auf den Ausgangswert oder ein neues Plateau eingestellt hatte. Jeweils beim letzten Spülen vor einem Effekt wurde die dem Ion entsprechende Lösung verwandt (vgl. Tab. 2). Bei jedem Ion wurden alle Konzentrationen jeweils an einem Vorhof geprüft. Das Ende des Versuches ergab sich dadurch, daß die inotrope Wirkung eines Ions entweder bei der nächsthöheren Konzentration nicht mehr zunahm oder irreversibel war.

Die Wirkung der Ionen in Ca-Abwesenheit (Versuchsserie II) wurde sowohl am MSV als auch am KT untersucht. Ein Versuch bestand aus den Phasen 0 - III. Nach der Äquilibration (Phase 0) in der den einzelnen Ionen entsprechenden (vgl. Tab. 2), 1,8 mM/l Ca enthaltenden Lösung wurde in der darauffolgenden Phase I eine Gruppe der Präparate (Serie A) 10 min in Ca-freie Tyrodelösung gebracht, um ein völliges Verschwinden der Kontraktionen zu erreichen. Bei der zweiten Gruppe (Serie B) enthielt in der Phase I die Ca-freie Lösung zusätzlich 5×10^{-2} mM/l EGTA; vor Beginn der Phase II wurden die Präparate der Serie B noch 5 min in EGTA- und Ca-freier Lösung gespült, um das EGTA zu beseitigen. In der Phase II kamen alle Präparate für 30 min in eine Lösung, die an Stelle der Ca-Ionen entweder eine äquimolare Menge oder eine 4 mal so große Menge der zu untersuchenden Ionen enthielt. Beim KT dauerte die Phase II bei der hohen Ionenkonzentration nur 15 min. In Phase III wurden alle Präparate in normale Tyrodelösung umgehängt, die meistens wieder 1,8 mM/l Ca enthielt. Stellten sich in Phase III nach 10 min keine oder nur sehr geringe Kontraktionen ein, so wurde die Ca-Konzentration auf 7,2 mM/l erhöht. Die Phase III dauerte solange, bis sich die KA auf ein Plateau eingestellt hatte, das dem Ausgangswert vor der Phase I

entsprach, beim MSV jedoch maximal 30 min. Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß sich bei den Ionen, die nicht in normaler Tyrodelösung untersucht wurden (Mn, Ni, Co und Zn), die Präparate während der Phase 0 in der dem Ion entsprechenden Lösung (2 oder 3) befanden, die auch während der Phasen I und II benutzt wurde. In der Phase III wurden jedoch alle Präparate bei allen Ionen wieder in normale Tyrodelösung gebracht.

Am Anfang jeden Versuches wurden die Präparate unmittelbar nach der Phase I (Dauer 15 min) wieder in Ca-haltige Lösung gebracht um auszuschließen, daß der Muskel nicht schon durch den Aufenthalt in Ca-freier Lösung irreversibel geschädigt wurde. Diese erste Kontrolle wurde zu Beginn jeden Versuches für jedes Präparat ausgeführt. Präparate, bei denen entweder nach der Phase I in Ca-haltiger Lösung sich die KA nicht wieder annähernd auf den Ausgangswert einstellte, oder die sich in Ca-freier Lösung nach 10 min noch kontrahierten, wurden nicht weiter verwendet.

In einer zweiten Kontrolle enthielt die Ca-freie Lösung während der Phase II kein zusätzliches Ion (Dauer 30 min). Dabei wurde in den Phasen 0 - II eine der drei Lösungen (vgl. Tab. 2), in der Phase III jedoch immer normale Tyrode-Lösung verwendet. Mit dieser Versuchsanordnung sollte ausgeschlossen werden, daß die 30-minütige Ca-Abwesenheit allein den Muskel schädigt. Starke Veränderungen in der Phase III sind also auf eine Nachwirkung der untersuchten Ionen zurückzuführen. Diese Kontrolle wurde bei jeweils 6 Präparaten pro Serie (A und B) und Lösung (1 und 3) durchgeführt.

V. Auswertung und statistische Bearbeitung

Bei der statistischen Analyse wurde zunächst für die Ergebnisse jeder Versuchsbedingung das arithmetische Mittel ($\bar{x}$)

und der zugehörige Standardfehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) nach den bei SNEDECOR (1950) angegebenen Richtlinien berechnet; n ist die Anzahl der Einzelwerte. Um die Unterschiede der gefundenen Mittelwerte auf Signifikanz zu prüfen, wurde der t-Test für Mittelwertdifferenzen verwendet. Dazu wurden die ermittelten Werte in die folgenden Formeln eingesetzt.

$$\text{Testgröße } t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2 + s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}}$$

$$\text{mit } \bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i$$

$$s^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \right)^2$$

n_1 = Umfang der Stichprobe 1

n_2 = Umfang der Stichprobe 2

Als Signifikanzgrenze wurde in Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen aus dem gleichen Problemkreis das 0,05-Niveau ($\alpha = 0,05$) gewählt. Da sich die Varianzen der verglichenen Stichproben in allen Fällen als homogen erwiesen, wurden die t-Werte stets mit einer Anzahl von $n_1 + n_2 - 2$ Freiheitsgraden ausgewertet (vgl. hierzu SNEDECOR, 1950).

D. ERGEBNISSE

I. Inotrope Wirkung zweiwertiger Ionen in Ca-haltiger Tyrodelösung

Die Wirkung zweiwertiger Ionen auf die Kontraktionskraft (inotrope Wirkung) in Gegenwart von 1,8 mM/l Ca wurde an elektrisch gereizten MSV untersucht. Dabei wurde die KA unmittelbar vor der Ionenzugabe jeweils gleich 100 % gesetzt, die KA und die Kontraktur 5 min nach der Ionenzugabe ausgemessen und in Prozent des Ausgangswertes angegeben. Unter diesen Bedingungen wirkten Ba ab 5×10^{-6} M/l und Sr von 10^{-4} M/l an dosisabhängig positiv inotrop (Abb. 2). Die Effekte setzten sofort nach Zugabe der Ionen ein und waren nach ein bis zwei Minuten maximal. Ab 10^{-4} M/l Ba und ab 10^{-3} M/l Sr verliefen die Effekte biphasisch, d.h. sofort nach Ionenzugabe trat ein bei Sr schwach, bei Ba stark überschießender, positiv inotroper Effekt ein, der nach etwa 30 sec ein Maximum erreichte, dann aber wieder abfiel. Nach spätestens zwei Minuten hatte sich die Kontraktion auf ein neues Plateau eingestellt. In der Auswertung wurde das Maximum nicht berücksichtigt, sondern wie bei allen anderen Ionen die KA nach 5 min gemessen. Extrasystolen traten vereinzelt in Anwesenheit von 5×10^{-3} M/l und 10^{-2} M/l Sr und 5×10^{-3} M/l Ba auf. In einzelnen Versuchen wurden Einzelkontraktionen registriert. Dabei zeigte sich, daß die Kontraktionsdauer durch Sr von 140 - 200 msec auf etwa 300 msec und durch Ba von 150 - 200 msec auf 300 - 1000 msec verlängert wurde. Bei 5×10^{-3} M/l bewirkte Ba eine schlecht ausspülbare Kontraktur von $38,9 \pm 8,92$ % (Auswertung nach 5 min).

Unter den gleichen Bedingungen, d.h. in Ca-haltiger Tyrodelösung, wirkten Mg, Mn, Ni, Co, Zn und Hg dosisabhängig negativ inotrop (Abb. 2). Die Schwellendosis betrug für

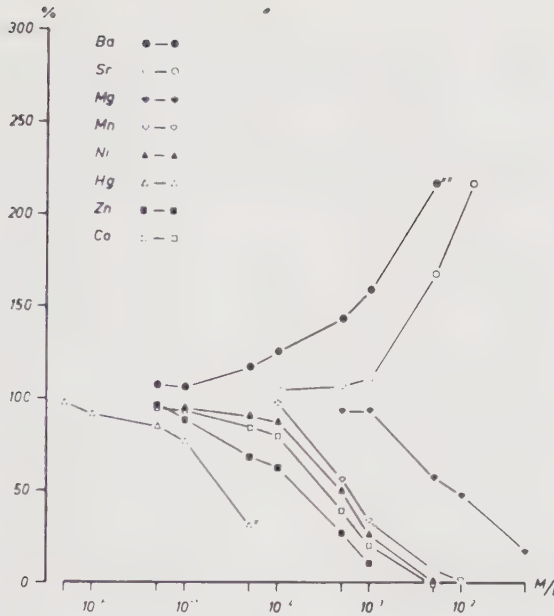


Abb. 2

Wirkung zweiwertiger Ionen auf die KA von μ SV in Ca-haltiger Lösung. Die KA unmittelbar vor der Ionenzugabe wurde gleich 100 % gesetzt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus je 6 Versuchen. Die Streuung wurde der Übersichtlichkeit wegen weggelassen (s. Text).

Abszisse: Konzentration des Ions in der Badlösung (M/l).

Die Konzentration von Mg erhöht sich jeweils um 1,05 mM/l, die schon in normaler Lösung vorhanden sind.

Ordinate: KA unter der Einwirkung des Ions in Prozent des Ausgangswertes, 5 min nach Ionenzugabe gemessen.

x: zusätzliche Kontraktur von $20,6 \pm 3,1$ % ($n = 6$)

xx: zusätzliche Kontraktur von $38,9 \pm 8,29$ % ($n = 6$)

Hg 5×10^{-7} M/l und für Mg 5×10^{-4} M/l. Zn, Co, Ni und Mn lagen dazwischen. Die negativ inotrope Wirkung von Co, Zn und Hg setzte sofort nach Ionenzugabe ein und nahm während des 10 min dauernden Effektes kontinuierlich zu; ein Plateau wurde während dieser Zeit nicht erreicht. Bei Ni und Mn verkleinerte sich die KA hauptsächlich in den ersten 5 min und blieb danach relativ unverändert, d.h. nach etwa 5 min hatte sich ein neues Plateau eingestellt. Extrasystolen konnten nicht beobachtet werden. Wie bei Ba trat innerhalb von 5 min bei den negativ inotrop wirkenden Ionen nur bei 5×10^{-5} M/l Hg eine Kontraktur von $20,6 \pm 3,11$ % auf, die ebenfalls irreversibel war.

Außer bei den erwähnten Kontrakturen waren die Veränderungen bei allen Ionen nach dem Spülen mit normaler Tyrodelösung im allgemeinen innerhalb von 5 min reversibel. Ein geringer, negativ inotroper Effekt blieb auch trotz mehrfachen Spülens bestehen nur nach der Einwirkung von 5×10^{-4} M/l Zn und 10^{-5} M/l Hg. Bei der Konzentration von 5×10^{-3} M/l, die zwischen den beiden in Versuchsserie II untersuchten Ionenkonzentrationen ($1,8 \times 10^{-3}$ M/l und $7,2 \times 10^{-3}$ M/l) lag, betrug in dieser Versuchsserie (I) die KA nach einer Einwirkzeit von 5 min bei Sr $169,3 \pm 20,22$ % ($n = 6$), bei Ba $218,1 \pm 36,91$ % ($n = 6$), bei Mn $6,5 \pm 0,53$ % ($n = 6$) und bei Ni $1,5 \pm 0,85$ % ($n = 6$) der gleich 100 % gesetzten Ausgangsamplitude. Co, Zn und Hg unterdrückten die Kontraktion bei diesen Konzentrationen bei allen Präparaten vollständig.

II. Zweiwertige Ionen als Ca-Ersatz in Ca-freier Tyrodelösung

Die Möglichkeit, Ca hinsichtlich der Kontraktionsauslösung durch andere zweiwertige Ionen zu ersetzen, wurde am Meer-schweinchenvorhof und am ventrikulären Kalbstrabekel nach

Ca-Entzug in Ca-freier Lösung untersucht (Versuchsserie II). Veränderungen der Kontraktionsamplitude und auftretende Kontrakturen wurden in Prozent des Ausgangswertes in Ca-haltiger (1,8 mM/l) Lösung unmittelbar vor Beginn der Phase I (vgl. Methode) angegeben.

1. Ca-Entzug

In der Phase I, d.h. nach Wechsel von Ca-haltiger zu Ca-freier Lösung mit oder ohne EGTA (vgl. Methode), waren beim MSV nach 10 min, beim KT nach spätestens 15 min keine Kontraktionen mehr zu registrieren. Die Abnahme der KA erfolgte nicht gleichmäßig (Abb. 3 - 7), sondern zu etwa 70 % (MSV) bzw. 50 % (KT) bereits in der ersten Minute. Beim MSV war sie nach 1 min auf $28,5 \pm 2,20 \%$ (Serie A, $n = 38$) bzw. auf $32,9 \pm 2,5 \%$ (Serie B, $n = 37$) gesunken; nach 5 min betrug sie $0,7 \pm 1,13 \%$ bzw. $5,3 \pm 0,88 \%$. Beim KT sank die KA nach 1 min auf $52,3 \pm 2,47 \%$ (Serie A, $n = 65$) bzw. auf $50,8 \pm 3,17 \%$ (Serie B, $n = 45$), nach 5 min auf $8,1 \pm 1,09 \%$ bzw. auf $10,2 \pm 1,41 \%$. Selbst nach 10 min kontrahierten sich von 65 noch 6 KT. Die KA nahm also beim KT langsamer ab als beim MSV. In der Abnahme der KA ließ sich weder beim MSV noch beim KT ein signifikanter Unterschied nachweisen zwischen EGTA-freier (Serie A) und EGTA-haltiger (Serie B) Lösung. Wurde während der Äquilibrierungsphase (Phase C) nicht normale Tyrodelösung, sondern Lösung 2 oder 3 (vgl. Tab. 1) verwendet und in Phase I die gleichen Lösungen ohne Ca und mit oder ohne EGTA, so lagen die Werte in etwa der gleichen Größenordnung wie bei normaler Tyrodelösung. Auch hier ließen sich in der KA-Abnahme keine signifikanten Unterschiede zwischen EGTA-freier (Serie A) und EGTA-haltiger (Serie B) Lösung nachweisen.

2. Ca-Ersatz

a) Kontrollversuche

Um auszuschließen, daß die Wirkung bzw. das Fehlen einer Wirkung bei den einzelnen Ionen allein durch den Aufenthalt der Präparate in Ca-freier Lösung bedingt wäre, wurden zwei Kontrollreihen ausgeführt.

In der ersten Kontrollreihe kamen MSV und KT unmittelbar nach der Phase I, die 10 (Serie A, ohne EGTA) bzw, 15 min (Serie B, mit EGTA) dauerte, wieder in Lösungen mit 1,8 mM/l Ca (entsprechend Phase III der nachfolgenden Versuche; es wurde also Phase II ausgelassen). Die Kontraktionen setzten sofort wieder ein und hatten innerhalb von 1 min wieder ein neues Plateau erreicht. Zu Kontrakturen kam es in der Phase III nur vereinzelt. Sie traten unregelmäßig bei allen Lösungen auf, machten im einzelnen jedoch nicht mehr als 11,1 % des Ausgangswertes aus. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der ersten Kontrollreihe beim MSV (die KT reagierten in etwa der gleichen Größenordnung). Dabei wird ersichtlich, daß die Restitution der Kontraktionen in Serie A etwas besser war als in Serie B. Ein signifikanter Unterschied ergab sich aber nur für die Werte bei Tris-tyrodelösung ($n = 6 - 9$, $p < 0,05$). Außerdem erholten sich die Präparate der Serie A in Tyrodelösung ohne Phosphatpuffer signifikant schlechter als in normaler Tyrodelösung ($n = 12 - 21$, $p < 0,05$); ebenfalls war in Serie B in Tris-tyrodelösung die Restitution der KA nicht so gut wie in normaler Tyrodelösung ($n = 6 - 19$, $p < 0,02$). Das spricht dafür, daß EGTA trotz mehrfachen Badwechsels nicht vollständig ausspülbar war.

Die zweite Kontrollreihe wurde am MSV ausgeführt. Dabei enthielt die Badlösung während der Phase II (Dauer 30 min) weder Ca noch zusätzlich ein zweiwertiges Ion. In Phase III

U

I

III

Serie	Lösung	KA	KA nach 10 min	Lösung	KA nach 15 min	n
A	Tyrode-	100 %	0 %	Tyrode-	93,6 $\pm$ 3,04 %	21
B	lösung	100 %	0 %	lösung	86,4 $\pm$ 3,09 %	19
A	Tyrodelösung	100 %	0 %	Tyrode-	82,1 $\pm$ 3,88 %	12
B	ohne Phosphatpuffer	100 %	0 %	lösung	76,5 $\pm$ 3,22 %	9
A	Tristyrode-	100 %	0 %	Tyrode-	83,3 $\pm$ 3,28 %	9
B	lösung	100 %	0 %	lösung	70,0 $\pm$ 6,74 %	6

Tabelle 3

Die Ergebnisse der ersten Kontrollreihe beim MSV. U, I und III bezeichnen die Phasen des Versuches. Die unter Phase U aufgeführte Lösung wurde - ohne Ca - auch in Phase I benutzt. Serie A: Phase I ohne EGTA. Serie B: Phase I mit 5×10^{-5} M/1 EGTA. Die KA wird in Spalte III in Prozent des Ausgangswertes (Spalte U) angegeben.

(1,8 mM Ca) setzten die Kontraktionen sofort wieder ein und erreichten bei der Gruppe mit Tyrodelösung in 2 - 5 min, bei der Gruppe mit Tristyrodelösung in 2 - 10 min ein neues Plateau. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Es zeigte sich, daß in beiden Lösungen in Phase III nach 15 min die KA der MSV in Serie A den Ausgangswert zu etwa 90 %, in Serie B jedoch nur zu etwa 50 % erreichte. Die Erholung EGTA-vorbehandelter MSV war also in beiden Lösungen deutlich schlechter als bei den nicht mit EGTA vorbehandelten Präparaten (jeweils $n = 6$, $p < 0,001$). Zu diesem Zeitpunkt (d.h. nach 15 min) bestand bei keinem Präparat eine Kontraktur von mehr als 10 % der KA der Phase 0 außer bei einem MSV, der in Serie B in normaler Tyrodelösung nach 15 min noch eine Kontraktur von 15,6 % aufwies.

b) Ionenwirkungen

Die Fähigkeit der untersuchten, zweiwertigen Ionen, Ca im kontraktionsauslösenden Mechanismus zu ersetzen, wurde in Ca-freier Lösung (Lösung 1 - 3, vgl. Tab. 1) an elektrisch gereizten MSV und KT untersucht (Versuchsserie II). Während des Äquilibrierens (Phase 0) bis einschließlich Phase II befanden sich die Präparate in einer dem zu untersuchenden Ion entsprechenden Lösung (vgl. Tab. 2), d.h. bei Mn in Tyrodelösung ohne Phosphatpuffer und bei Ni, Co und Zn in Tristyrodelösung. Anschließend wurden alle Präparate in normale Tyrodelösung gebracht, die 1,8 mM/l Ca oder, wenn bei dieser Konzentration die Kontraktionen nicht wieder einsetzten, 7,2 mM/l Ca enthielt. Die Ergebnisse werden in den Abbildungen 3 - 7 und in den Tabellen 5 und 6 dargestellt.

x) Strontium

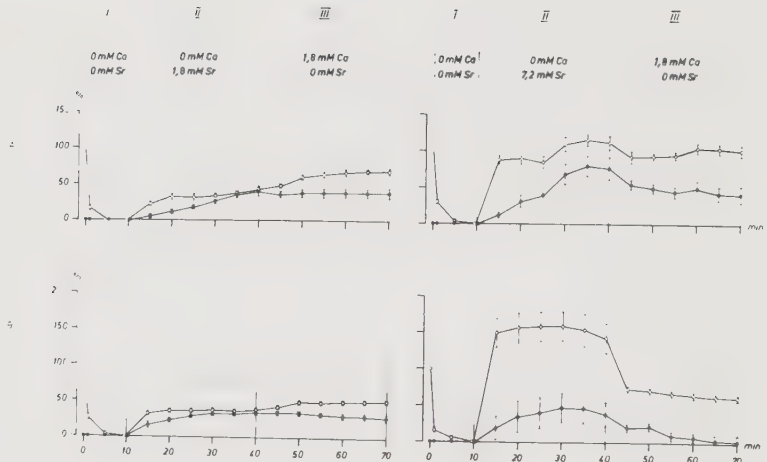
Meerschweinchenvorhof. Abb. 3 zeigt den Versuchsverlauf und die Ergebnisse beim MSV unter der Einwirkung von Sr.

0 I II III

Serie	Lösung	KA	KA nach 10 min	KA nach 30 min	Lösung	KA nach 15 min	n
A	Tyrode-	100 %	0 %	0 %	Tyrode-	86,1 ± 7,25 %	6
B	lösung	100 %	0 %	0 %	lösung	43,8 ± 4,56 %	6
A	Tristyrode-	100 %	0 %	0 %	Tyrode-	91,5 ± 3,87 %	6
B	lösung	100 %	0 %	0 %	lösung	52,6 ± 4,95 %	6

Tabelle 4

Ergebnisse der zweiten Kontrollreihe beim nSV. 0 - III bezeichnen die Phasen des Versuches.
 Die unter Phase 0 aufgeführten Lösungen wurden - ohne Ca - auch in den Phasen I und II benutzt.
 Serie A: Phase I ohne EGTA, Serie B: Phase I mit 5×10^{-5} M/EGTA. Die KA wird in Prozent des Ausgangswertes (Phase 0) angegeben.



A Phase I ohne EGTA
B Phase I mit 5×10^{-2} mM EGTA

Abb. 3

Spannungsentwicklung elektrisch gereizter MSV unter der Einwirkung von 1,8 bzw. 7,2 mM/l Sr in Ca-freier Lösung und in der anschließenden Erholungsphase mit 1,8 mM/l Ca. I - III: Phasen des Versuches (vgl. Methode)

Serie A: Phase I ohne EGTA

Serie B: Phase I mit 5×10^{-2} mM/l EGTA

Der Gehalt der Lösungen an Ca und Sr wird in den Spalten unter der Phasenbezeichnung in mM/l angegeben.

Abszisse: Zeit vom Beginn der Phase I (min).

Ordinate: KA bzw. Kontraktur in Prozent des Ausgangswertes unmittelbar vor Beginn der Phase I.

Bei 1,8 mM/l Sr: $n = 8$

Bei 7,2 mM/l Sr: $n = 6$

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlere Fehler der Mittelwerte.

●—● : Kontraktion ○—○ : Kontraktur

Das Ausmaß der Spannungsentwicklung (Kontraktion und Kontraktur, 15 min nach Beginn der Phase II gemessen) in Ca-freier, Sr-haltiger Lösung ist aus Tab. 5 ersichtlich. Nachdem in Ca-Abwesenheit (Phase I) ein Kontraktionsstillstand eingetreten war, setzten die Kontraktionen unmittelbar zu Beginn der Phase II sowohl bei 1,8 mM/l Sr als auch bei 7,2 mM/l Sr wieder ein. Die Effekte waren bei der hohen Sr-Konzentration signifikant stärker als bei der niedrigen (Serie A: $n = 8 - 9$, $p < 0,005$; Serie B: $n = 6 - 8$, $p < 0,001$). Während die KA bei 1,8 mM/l Sr nach 15 min in beiden Serien nur etwa 10 % betrug, war sie bei 7,2 mM/l Sr in Serie A mit annähernd 50 % signifikant kleiner als mit 120 % in Serie B ($n = 6$, $p < 0,005$). Ein Maximum erreichten die Kontraktionen unter allen vier Bedingungen nach 5 - 10 min. Danach nahmen sie wieder ab. Die Gesamtverkürzung des Muskels blieb jedoch annähernd konstant. Denn die Kontraktur, die ebenfalls wie die Kontraktionen sofort nach Sr-Zugabe auftrat, verstärkte sich kontinuierlich im Verlauf der Phase II. Sie war zwar größer als bei der vergleichbaren Kontrolle (vgl. Tab. 3), es ließ sich aber für die Kontraktur keine Dosisabhängigkeit nachweisen. Während die Kontraktur bei 1,8 mM/l Sr mit 40 % (Serie A) bzw. mit 35 % (Serie B) den überwiegenden Anteil an der Gesamtverkürzung ausmachte, änderte sich dieses Verhältnis bei 7,2 mM/l Sr in Serie A, wobei die Kontraktur immer noch doppelt so groß war wie die KA. In Serie B hingegen überlagerte die Kontraktion mit 117 % bei weitem die Kontraktur (48 %). Für die aus Abb. 3 ersichtlichen Unterschiede zwischen Serie A und Serie B bei der niedrigen und hohen Sr-Konzentration ließ sich jedoch keine statistische Signifikanz nachweisen. Während der Phase II wurden wiederholt Einzelkontraktionen registriert. Dabei zeigte sich, daß die Kontraktionsdauer von 140 - 200 msec in normaler Tyrodelösung auf etwa 300 msec in Ca-freier, Sr-haltiger Lösung erhöht war. Bei normaler oder gering

Konzentration des untersuchten

Ions: 1,8 mm/l.

Konzentration des untersuchten

Ions: 7,2 mm/l.

Ion	Serie	K _A	K	K _A	K
Sr	A	12,3 ± 3,23 (8)	39,7 ± 5,98 (8)	47,8 ± 8,07 (9)	35,1 ± 12,40 (9)
	B	5,3 ± 1,05 (8)	34,7 ± 1,89 (8)	117,7 ± 19,57 (6)	47,6 ± 19,45 (6)
Ba	A	0,6 ± 0,32 (6)	7,6 ± 2,30 (6)	8,5 ± 1,31 (6)	79,3 ± 9,29 (6)
	B	0 (6)	4,7 ± 3,93 (6)	4,1 ± 1,24 (6)	84,7 ± 12,77 (6)
Mg x	A	0 (6)	0 (6)	0 (6)	0,4 ± 0,99 (6)
	B	0 (6)	0 (6)	0 (6)	1,3 ± 0,62 (6)
Mn	A	0 (12)	2,1 ± 1,11 (12)	0 (12)	7,6 ± 2,00 (12)
	B	0 (9)	1,6 ± 0,70 (9)	0 (9)	5,1 ± 1,40 (9)
Ni	A	0 (3)	2,8 ± 0,53 (3)	0 (3)	1,3 ± 1,37 (3)
	B	0 (3)	3,3 ± 3,41 (3)	0 (3)	5,4 ± 3,11 (3)
Co	A	0 (3)	3,2 ± 2,34 (3)	0 (3)	3,3 ± 1,76 (3)
	B	0 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
Zn	A	0 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
	B	0 (3)	1,2 ± 1,03 (3)	0 (3)	0 (3)
Hg	A	0 (3)	51,9 ± 4,02 (3)	0 (3)	34,2 ± 3,22 (3)
	B	0 (3)	29,5 ± 8,02 (3)	0 (3)	27,0 ± 6,45 (3)

Tabelle 5

Kontraktion und Kontraktur isolierter MSV in Ca-freier Lösung in Gegenwart verschiedener zweiwertiger Ionen (Konzentration 1,8 oder 7,2 mm/l.). K_A: Kontraktionsamplitude, K: Kontraktur.

Die angegebenen Werte sind Mittelwerte und deren mittlere Fehler. K_A und K wurden 15 min nach Beginn der Phase II gemessen und werden in Prozent des Ausgangswertes vor Beginn der Phase I angegeben. Zahlen in Klammern = Anzahl der Präparate. Serie K: Phase I ohne EDTA, Serie B: Phase I mit 5×10^{-2} mm/l. EDTA.

x: Die Konzentration von Mg betrug 1,8 und 7,2 mm/l. zusätzlich der in normaler Tyrodelösung vorhandenen 1,05 mm/l.

verzögerter Anstiegsgeschwindigkeit war in Gegenwart von Sr besonders die Erschlaffung des Muskels verzögert.

Nachdem in Phase III die Ca-freie, Sr-haltige Lösung durch Tyrodelösung mit 1,8 mM/l Ca ersetzt worden war, näherte sich die Gesamtverkürzung des MSV dem Ausgangswert, wobei die Kontraktionen immer kleiner und die Kontraktionen entweder größer (nach 1,8 mM/l Ca) oder kleiner (nach 7,2 mM/l Ca) wurden. Außer nach 7,2 mM/l Sr in Serie B lag der Anteil der Kontraktur mit etwa 30 - 40 % der Ausgangsverkürzung über vergleichbaren Werten der entsprechenden Kontrollen (Kontrollreihe 2, Tab. 4). Auch die Kontraktionsdauer nahm wieder der Phase 0 vergleichbare Werte an.

Kalbstrabekel. Beim KT wirkte Sr in ähnlicher Weise wie beim MSV (s. Tab. 6). Kontraktionen setzten ebenfalls innerhalb weniger Sekunden nach Beginn der Phase II ein. Die KT kontrahierten sich in den ersten 5 - 10 min maximal; danach fiel die KA wieder ab. Nur bei Serie A bei 1,8 mM/l Sr stieg sie kontinuierlich im Lauf der 30 min an. Außerdem reagierten in Anwesenheit von 1,8 mM/l Sr in Serie A drei Präparate, in Serie B ein Präparat von jeweils 6 mit einer Kontraktur. Der Anteil der Kontraktur an der Gesamtverkürzung lag jedoch in jedem Fall unter dem der Kontraktion. Dabei blieb in der Phase III die Kontraktur der KT in Serie A mit $16,4 \pm 10,24$ % konstant weiter bestehen, in Serie B aber verstärkte sie sich. Bei 7,2 mM/l Sr betrug die KA in Serie A mehr als 100 %, in Serie B sogar mehr als 200 %. Die Kontraktur blieb demgegenüber mit etwa 40 % (Serie A) bzw. 55 % (Serie B) des Ausgangswertes in der gleichen Größenordnung wie beim MSV, lag aber im Anteil an der Gesamtverkürzung beim KT im Gegensatz zum MSV unter dem der Kontraktion. Eine Dosisabhängigkeit ließ sich für die KA in Serie A ($n = 6$, $p < 0,005$) und in Serie B ($n = 6$, $p < 0,005$) und für die Kontraktur in Serie B ($n = 6$, $p < 0,05$) nachweisen.

Ion	Serie	Konzentration des untersuchten Ions: 1,8 m μ /l		Konzentration des untersuchten Ions: 7,2 m μ /l	
		K $\bar{A}$	K	K $\bar{A}$	K

Sr	A	35,8 $\pm$	9,54 (6)	11,9 $\pm$	5,86 (6)	137,5 $\pm$	23,52 (6)	38,1 $\pm$	19,60 (6)
	B	25,2 $\pm$	10,57 (6)	9,7 $\pm$	4,38 (6)	220,6 $\pm$	52,76 (6)	54,6 $\pm$	23,83 (6)
Ba	A	0,7 $\pm$	0,69 (4)	200,4 $\pm$	34,66 (4)	0	(4)	569,8 $\pm$	123,49 (4)
	B	5,6 $\pm$	5,43 (4)	301,3 $\pm$	98,30 (4)	0	(4)	534,1 $\pm$	67,59 (4)
Mg x	A	0	(6)	15,2 $\pm$	8,43 (6)	0	(6)	11,3 $\pm$	7,48 (6)
	B	0	(6)	10,2 $\pm$	13,04 (6)	0	(6)	-5,6 $\pm$	9,50 (6)
Mn	A	0	(6)	8,3 $\pm$	8,05 (6)	0	(6)	35,0 $\pm$	14,48 (6)
	B	0	(6)	0	(6)	0	(6)	27,0 $\pm$	6,89 (6)

Tabelle 6

Kontraktion und Kontraktur isolierter KT in ca-freier Lösung in Gegenwart verschiedener zweiwertiger Ionen (Konzentration 1,8 oder 7,2 m μ /l). K $\bar{A}$: Kontraktionsamplitude. κ : Kontraktur. Die angabenebenen Werte sind Mittelwerte und werden in Prozent des Ausgangswertes vor Beginn der Phase I angegeben. Zahlen in Klammern = Anzahl der Präparate. Serie K: Phase I ohne EGTA. Serie B: Phase I mit 5×10^{-2} m μ /l EGTA.

x: Die Konzentration von mg betrug 1,8 oder 7,2 m μ /l zusätzlich der in normaler Tyrodelösung vorhanden 1,65 m μ /l.

Wie beim MSV trat auch beim KT in Sr-haltiger Lösung eine Verlängerung der Kontraktionsdauer auf. Sie stieg von 500 msec in normaler Tyrodelösung auf 900 - 1000 msec in Ca-freier, Sr-haltiger Lösung. Auch hier war besonders die Erschlaffung verzögert, in Einzelfällen so sehr, daß nur noch jeder 3. - 10. elektrische Reiz mit einer Kontraktion beantwortet wurde. Die Kontraktionsdauer betrug dann 3 - 10 sec.

In der Phase III bildeten sich die unter Sr-Einwirkung entstandenen Veränderungen nur teilweise wieder zurück. Nach 1,8 mM/l Sr restituierte sich die KA zwar wieder auf etwa 100 %, nach 7,2 mM/l Sr jedoch nur auf 34 %. Die Kontrakturen blieben nach 1,8 mM/l Sr, wie schon erwähnt, bestehen oder verstärkten sich; nach 7,2 mM/l Sr gingen sie zurück auf 10 - 20 %, so daß die Gesamtverkürzung in allen Serien in der Phase III zwischen 50 und 100 % lag.

In Bezug auf den Kontraktionsmechanismus konnte also Sr Ca teilweise ersetzen, und zwar beim KT stärker als beim MSV. Alle Effekte waren dosisabhängig. Beim MSV bestand außer in der Serie B bei 7,2 mM/l Sr die Hauptwirkung nicht in der Auslösung von Kontraktionen, sondern von Kontrakturen. Beim KT überwog unter allen Bedingungen die KA das Ausmaß der Kontraktur. In der Phase III stellten sich die Verhältnisse der Phase 0 annähernd wieder her. Allerdings waren die Kontraktionen dabei teilweise kleiner und die Kontrakturen teilweise größer als die Ausgangswerte.

B) Barium

Meerschweinchenvorhof. Abb. 4 und Tab. 5 stellen die Verhältnisse dar, die sich beim elektrisch gereizten MSV ergaben, wenn 1,8 mM/l Ca der Tyrodelösung durch 1,8 oder 7,2 mM/l Ba ersetzt wurden. Nachdem in Phase I in Ca-Abwesenheit ein Kontraktionsstillstand eingetreten war, setzten sofort nach Lösungswechsel (Phase I zu Phase II)

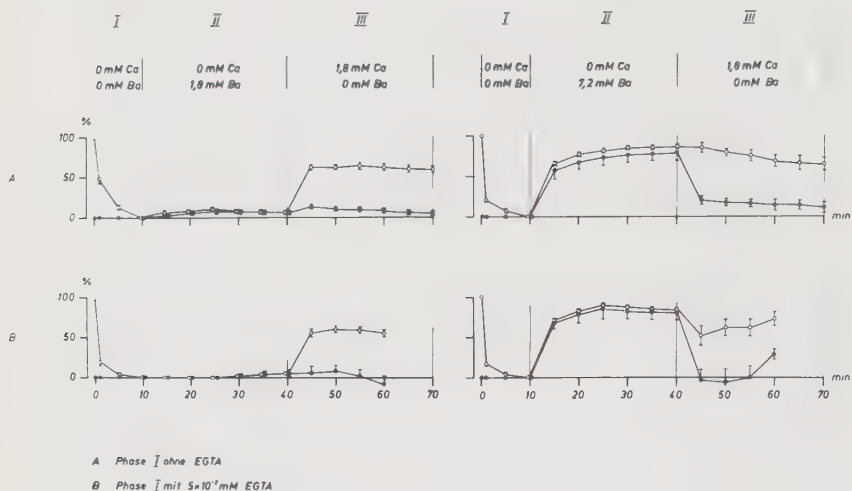


Abb. 4

Spannungsentwicklung elektrisch gereizter MSV unter der Einwirkung von 1,8 bzw. 7,2 mM/l Ba in Ca-freier Lösung und in der anschließenden Erholungsphase mit 1,8 mM/l Ca.

I - III: Phasen des Versuches (vgl. Methode)

Serie A: Phase I ohne EGTA

Serie B: Phase I mit 5×10^{-2} mM/l EGTA

Der Gehalt der Lösungen an Ca und Ba wird in den Spalten unter der Phasenbezeichnung in mM/l angegeben.

Abszisse: Zeit vom Beginn der Phase I (min).

Ordinate: KA bzw. Kontraktur in Prozent des Ausgangswertes unmittelbar vor Beginn der Phase I.

Bei 1,8 mM/l Ba: $n = 6$

Bei 7,2 mM/l Ba: $n = 6$

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlere Fehler der Mittelwerte.

●—● : Kontraktion o—o : Kontraktur

außer bei 1,8 mM/l Ba in Serie B Kontraktionen ein. Die KA erreichte nach 5 - 10 min ein Maximum, das jedoch in jedem Fall unter 10 % lag. Bei 1,8 mM/l Ba verschwanden die Kontraktionen im weiteren Verlauf wieder. Dafür nahm aber die ebenfalls zu Beginn der Phase II einsetzende Kontraktur geringgradig zu, wobei sich ein Unterschied zwischen Serie A und Serie B nachweisen ließ ($n = 6$, $p < 0,02$). Die Gesamtverkürzung blieb also immer unter 10 %. Unter der Einwirkung von 7,2 mM/l Ba stellte sich in den ersten 5 - 10 min eine während der gesamten Phase II relativ konstant bleibende KA ein. Die KA war für Serie A ($8,5 \pm 1,25\%$) und Serie B ($4,1 \pm 1,15\%$) deutlich verschieden ($n = 6$, $p < 0,05$). Die Kontraktur stieg in den ersten 5 min auf über 50 % und stellte sich anschließend auf Werte zwischen 70 % (Serie A) und 80 % (Serie B) ein; sie lag also bei einem Vielfachen der KA. Die Gesamtverkürzung betrug etwa 85 %. Alle Effekte waren dosisabhängig, sowohl die Kontraktion in Serie A ($n = 6$, $p < 0,001$) und in Serie B ($n = 6$, $p < 0,005$) als auch die Kontrakturen in Serie A ($n = 6$, $p < 0,001$) und in Serie B ($n = 6$, $p < 0,001$). Im Gegensatz zum Sr war also bei Ba auch die Kontraktur konzentrationsabhängig. Während der Phase II wurden wiederholt Einzelkontraktionen registriert. Dabei zeigte sich, daß die Kontraktionsdauer von 150 - 200 msec in normaler Tyrodelösung auf 300 - 1000 msec in Ca-freier, Ba-haltiger Lösung verlängert war. Die in besonderem Maß verzögerte Erschlaffung des Muskels vollzog sich in zwei Abschnitten. Zwischen dem ersten Abschnitt nach dem Kontraktionsgipfel und dem zweiten am Ende der Kontraktion lag ein Plateau auf der halben Höhe der KA. Bedingt durch diese verlängerte Erschlaffungsphase reagierte der Muskel nur auf jeden 2. - 3. elektrischen Reiz mit einer Kontraktion.

Die unter Ba-Einwirkung aufgetretenen Veränderungen waren in normaler Tyrodelösung wieder reversibel. In der Phase III

traten wieder Kontraktionen mit zunehmender Amplitude auf, und die Kontrakturen bildeten sich schnell und gut zurück. Ba bewirkte jedoch in beiden Serien eine bleibende, geringgradige Verminderung der KA, wobei in der Serie B die KA etwa den Kontrollwerten entsprach (vgl. Tab. 4). Während in den ersten 5 min vereinzelt Extrasystolen auftraten, hatte die Kontraktionsdauer wieder der Phase 0 vergleichbare Werte angenommen.

Kalbstrabekel. Hier waren in beiden Serien (mit und ohne EGTA) nur bei 1,8 mM/l Ba schwache Kontraktionen auszulösen, und zwar in Serie A schwächer als in Serie B. Sie setzten sofort ein, erreichten in Serie A nach 1 min ein Maximum von $15,3 \pm 11,33$ %, in Serie B nach 5 min ein Maximum von $10,0 \pm 5,43$ % und verschwanden nach weiteren 5 min in jeder Serie bei jeweils 3 von 4 Präparaten völlig. Unter der Einwirkung von 7,2 mM/l Ba waren bei den KT keine Kontraktionen zu registrieren. Demgegenüber entstanden aber ausgeprägte Kontrakturen, die sofort begannen und im ganzen Verlauf der Phase II weiter zunahmen, bei 1,8 mM/l Ba bis über 200 % (Serie A) bzw. über 300 % (Serie B); bei 7,2 mM/l Ba lagen sie nach 30 min Ba-Einwirkung sogar zwischen 530 und 570 %. Für die Kontraktur ließ sich nur in Serie A eine Dosisabhängigkeit nachweisen ($n = 4$, $p < 0,02$). Die Kontraktionsdauer war wie beim MSV verlängert, und zwar von 600 - 800 msec bei den Kontrollen auf 1000 - 3000 msec in Ca-freier, Ba-haltiger Lösung. Das hatte zur Folge, daß nicht jeder elektrische Reiz zu einer Kontraktion führte.

Die Wirkung von Ba war nur teilweise reversibel. Gleich zu Beginn der Phase III setzten wieder Kontraktionen ein, die langsam auf 30 - 50 % des Ausgangswertes zunahmen. Gleichzeitig traten vorübergehend in den ersten 5 min Extrasystolen auf. Jedoch blieb nach der Einwirkung von 1,8 mM/l Ba eine Kontraktur von 55 % (Serie A) bzw. 20 % (Serie B) und nach 7,2 mM/l Ba eine Kontraktur von 30 %

(Serie A) bzw. 80 % (Serie B) zurück.

Die Hauptwirkung von Ba bestand also in der Auslösung von Kontrakturen, beim KT noch wesentlich stärker als beim MSV. Die Ba-induzierten Kontraktionen überschritten nie den Wert von 10 % der Ausgangs-KA. Die KA erreichte schnell ansteigend ein Maximum; anschließend bildeten sich die Kontraktionen kontinuierlich und bei fast allen Präparaten vollständig zurück. Die Ba-Wirkungen waren nur teilweise reversibel; in der Phase III kontrahierten sich die Präparate zwar wieder, die in der Phase II aufgetretenen Kontrakturen bildeten sich jedoch nicht völlig zurück.

γ) Magnesium

Meerschweinchenvornof. Die Ergebnisse der Einwirkung von Mg auf den MSV sind in Abb. 5 und in Tab. 5 dargestellt. In Abwesenheit von Ca traten weder bei 1,8 noch bei 7,2 mM/l Mg registrierbare Kontraktionen auf. Auch zu Kontrakturen kam es nur bei 7,2 mM/l Mg; sie waren jedoch mit 0,4 % (Serie A) und 1,3 % (Serie B) sehr klein.

In der Phase III setzten die Kontraktionen sofort wieder ein und erreichten schon innerhalb der ersten 5 min ein Plateau. Gleichzeitig kam es, wie Abb. 5 zeigt, zu deutlichen Kontrakturen, besonders auffällig nach der Einwirkung von 7,2 mM/l Mg. Aber auch nach dem Wechsel von 1,8 mM/l Mg (Phase II) zu 1,8 mM/l Ca (Phase III) entwickelte sich in 5 min eine Kontraktur, die aber im weiteren Verlauf wieder abfiel.

Kalbstrabekel. Tab. 5 zeigt, daß auch die KT sich unter der Einwirkung von Mg nicht kontrahierten; dagegen traten besonders bei 1,8 mM Mg sofort nach Ionenzugabe Kontrakturen auf, die im weiteren Verlauf der Phase II bis auf 18 % (Serie A) und 35 % (Serie B) zunahmen. In Gegenwart von 7,2 mM/l Mg entwickelten in der Serie A 3 von 6 Trabekeln eine Kontraktur, in Serie B nur einer von 5. In

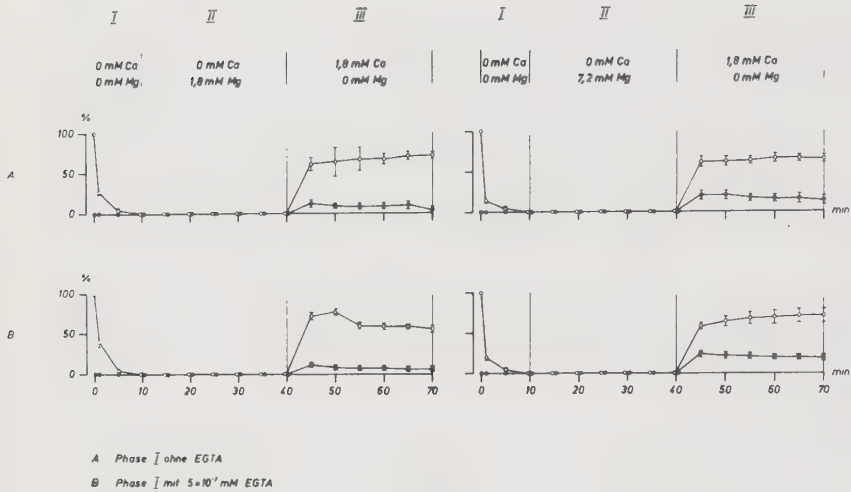


Abb. 5

Spannungsentwicklung elektrisch gereizter MSV unter der Einwirkung von 1,8 bzw. 7,2 mM/l Mg in Ca-freier Lösung und in der anschließenden Erholungsphase mit 1,8 mM/l Ca. (Die Konzentration von Mg erhöhte sich um die in normaler Tyrodelösung vorhandenen 1,05 mM/l Mg).

I - III: Phasen des Versuches (vgl. Methode)

Serie A: Phase I ohne EGTA

Serie B: Phase I mit 5×10^{-2} mM/l EGTA

Der Gehalt der Lösungen an Ca und Mg wird in den Spalten unter der Phasenbezeichnung in mM/l angegeben.

Abszisse: Zeit von Beginn der Phase I (min).

Ordinate: KA bzw. Kontraktur in Prozent des Ausgangswertes unmittelbar vor der Phase I.

Bei 1,8 mM/l Mg: $n = 6$

Bei 7,2 mM/l Mg: $n = 6$

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlere Fehler der Mittelwerte.

●—● : Kontraktion ○—○ : Kontraktur

der Phase III stellten sich die sofort beginnenden Kontraktionen nach 5 min auf ein Plateau ein und die Kontrakturen verstärkten sich, in Serie A auf nicht mehr als 10 %, in Serie B auf nicht mehr als 20 %.

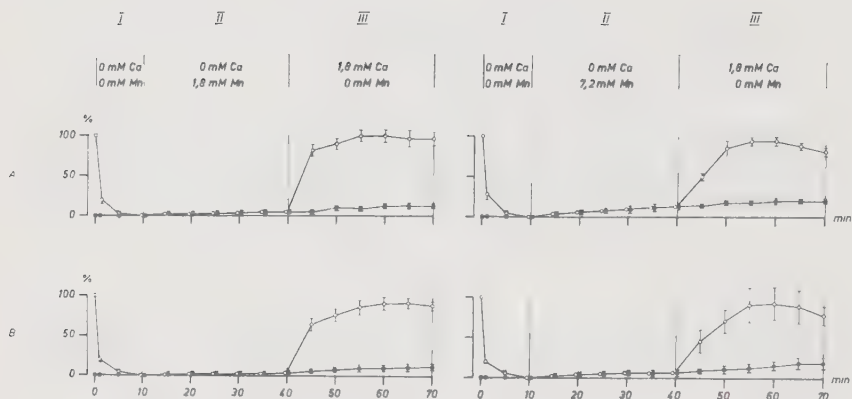
Mg löste also weder am MSV noch am KT Kontraktionen aus. Während der direkten Mg-Einwirkung entstanden beim MSV schwache, beim KT stärkere Kontrakturen, die sich im Anschluß an Phase II noch weiter verstärkten.

δ) Mangan

Meerschweinchenvorhof. Die Wirkung von Mn am MSV zeigen Abb. 6 und Tab. 5. Mit und ohne EGTA fanden sich annähernd die gleichen Ergebnisse. In Ca-freier Lösung konnten in Gegenwart von Mn bei keiner der beiden Konzentrationen (1,8 und 7,2 mM/l Mn) Kontraktionen ausgelöst werden. Kontrakturen, die sofort einsetzten, nahmen langsam zu und erreichten bei 7,2 mM/l Mn höhere Werte (13,1 bzw. 6 %) als bei 1,8 mM/l Mn (unter 5 %).

Die Kontraktionen stellten sich schon in den ersten 10 - 15 min der Phase III wieder auf ein Plateau ein, das den Ausgangswert der Phase 0 annähernd erreichte. Gleichzeitig nahmen die Kontrakturen weiter zu, überschritten aber nicht 10 %.

Kalbstrabekel. Auch KT kontrahierten sich in Ca-freier Lösung unter der Einwirkung von Mn in beiden Konzentrationen (1,8 und 7,2 mM/l Mn) nicht (vgl. Tab. 6). Bei 1,8 mM/l Mn entstand nur bei einem von 6 KT in Serie A eine Kontraktur, die bis 74 % anstieg, bei 7,2 mM/l Mn entwickelten sich in beiden Serien bei jeweils 5 von 6 KT Kontrakturen, die bei den einzelnen Präparaten und von Präparat zu Präparat stark schwankten. Die Werte stiegen meist bis 40 %. Alle Veränderungen waren in der Phase III wieder gut reversibel. Die Kontraktionen restituierten sich gut und erreichten teilweise 120 %, die Kontrakturen bildeten sich zurück.



A Phase I ohne EGTA

B Phase I mit 5×10^{-2} mM EGTA

Abb. 6

Spannungsentwicklung elektrisch gereizter MSV unter der Einwirkung von 1,8 bzw. 7,2 mM/l Mn in Ca-freier Lösung und in der anschließenden Erholungsphase mit 1,8 mM/l Ca.

I - III: Phasen des Versuches (vgl. Methode)

Serie A: Phase I ohne EGTA

Serie B: Phase I mit 5×10^{-2} mM/l EGTA

Der Gehalt der Lösungen an Ca und Mn wird in den Spalten unter der Phasenbezeichnung in mM/l angegeben.

Abszisse: Zeit vom Beginn der Phase I (min).

Ordinate: KA bzw. Kontraktur in Prozent des Ausgangswertes unmittelbar vor Beginn der Phase I.

Bei 1,8 mM/l Mn: $n = 9 - 12$

Bei 7,2 mM/l Mn: $n = 6 - 9$

Angegeben sind Mittelwerte $\pm$ mittlere Fehler der Mittelwerte.

●—● : Kontraktion ○—○ : Kontraktur

Auf die Gegenwart von Mn an Stelle von Ca reagierten MSV und KT also nicht mit Kontraktionen, sondern nur mit Kontrakturen, die jedoch bis auf die oben erwähnte Ausnahme nie mehr als 40 % ausmachten. Im Vergleich zu den vorhergehenden Ionen fand nach der Mn-Einwirkung in Phase III sowohl beim MSV als auch beim KT eine besonders gute Restitution der Kontraktionen statt.

ε) Nickel und Kobalt

Ni und Co wurden nur am MSV untersucht. In Ca-freier Lösung kam es hier in Gegenwart von Ni und Co in beiden Konzentrationen (1,8 und 7,2 mM/l) und in beiden Serien (A und B) wie bei Mn nicht zu Kontraktionen. Kontrakturen traten bei Co bei beiden Konzentrationen nur in Serie A und bei Ni in allen Serien, aber nicht bei allen Präparaten auf; sie blieben aber immer unter 10 % der Ausgangslage und nahmen in der anschließenden Phase III wieder ab.

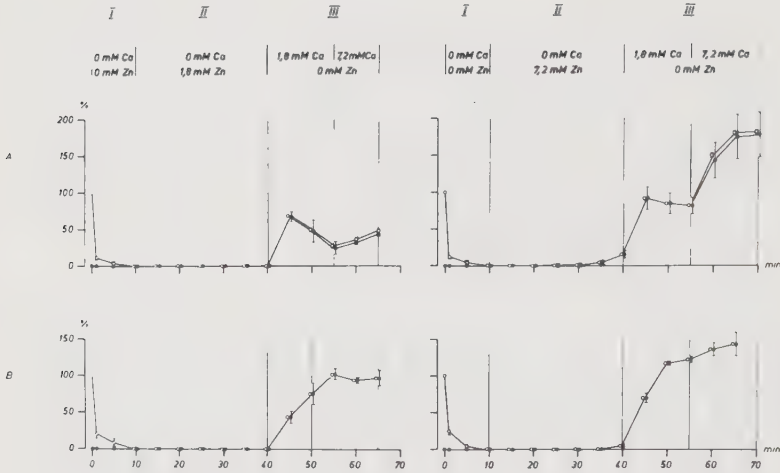
Wie bei Mn restituierten sich die Kontraktionen in der Phase III nach Co-Einwirkung sofort wieder bis zu 80 %, nach Ni-Einwirkung in Serie A bis zu 90 - 110 %, in Serie B nur bis zu 60 % (nach 1,8 mM/l Ni) bzw. 40 % (nach 7,2 mM/l Ni).

Wie Mn können also auch Ni und Co das Ca in Bezug auf die Kontraktionsauslösung nicht ersetzen. Alle drei Ionen führten gelegentlich zu Kontrakturen, die am MSV nicht mehr als 13 % und am KT nicht mehr als 40 % ausmachten. Ihre Wirkung war in Phase III gut reversibel.

ζ) Zink und Quecksilber

Zn und Hg wurden wie Ni und Co nur am MSV untersucht.

Zink. Abb. 7 und Tab. 5 geben die Ergebnisse der Versuchsserie mit Zn wieder. In Serie A bewirkten weder 1,8 noch 7,2 mM/l Zn Kontraktionen oder Kontrakturen. Auch in Serie B kam es nicht zu Kontraktionen, wohl aber zu Kontrakturen



A Phase I ohne EGTA

B Phase I mit 5×10^{-2} mM EGTA

Abb. 7

Spannungsentwicklung elektrisch gereizter MSV unter der Einwirkung von 1,8 bzw. 7,2 mM/l Zn in Ca-freier Lösung und in der anschließenden Erholungsphase mit 1,8 und 7,2 mM/l Ca.

I - III: Phasen des Versuches (vgl. Methode)

Serie A: Phase I ohne EGTA

Serie B: Phase I mit 5×10^{-2} mM/l EGTA

Der Gehalt der Lösungen an Ca und Zn wird in den Spalten unter der Phasenbezeichnung in mM/l angegeben.

Abszisse: Zeit vom Beginn der Phase I (min).

Ordinate: KA bzw. Kontraktur in Prozent des Ausgangswertes unmittelbar vor Beginn der Phase I.

Bei 1,8 mM/l Zn: $n = 3$

Bei 7,2 mM/l Zn: $n = 3$

Angegeben sind Mittelwerte $\pm$ mittlere Fehler der Mittelwerte.

●—● : Kontraktion

○—○ : Kontraktur

bis zu 10 % bei 1,8 mM/l Zn bzw. 14,3 % bei 7,2 mM/l Zn. Während der Phase III traten nur bei einem von drei Präparaten in Serie A nach 1,8 mM/l Zn geringe Kontraktionen auf. Alle anderen Präparate kontrahierten sich in Anwesenheit von 1,8 mM/l Ca in den ersten 10 min nicht. Nachdem die Ca-Konzentration in Phase III auf 7,2 mM/l erhöht worden war, kontrahierten sich zusätzlich noch alle Präparate der Serie A nach 7,2 mM/l Zn, aber nicht die Präparate der Serie B. Die Kontrakturen nahmen in der Phase III weiter zu.

Quecksilber. Hg löste am MSV ebenfalls keine Kontraktionen auf (vgl. Tab. 5). Es kam jedoch unter allen Bedingungen zu Kontrakturen. Die Kontraktur stieg mit Beginn der Phase II steil an und erreichte bei 1,8 mM/l Hg mit 40 - 50 % höhere Werte als bei 7,2 mM/l Hg (30 %). Dabei waren die Ergebnisse der Serien A und B (ohne und mit EGTA) im wesentlichen die gleichen.

Die Veränderungen erwiesen sich in der Phase III als völlig irreversibel. Es setzten weder bei 1,8 noch bei 7,2 mM/l Ca Kontraktionen ein, und die Kontraktur blieb unverändert.

Auch Zn und Hg können Ca bei der Auslösung der Kontraktion also nicht ersetzen. Beide Ionen lösten in Ca-freier Lösung nur sehr starke, meist irreversible Kontrakturen, aber keine Kontraktionen aus.

E. DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit ergab im wesentlichen folgende Ergebnisse. Bei Strontium und Barium kam es in Ca-haltiger Lösung am MSV unter der Einwirkung von Sr und Ba 1. zu einer dosisabhängigen Zunahme der Kontraktionskraft,

2. zu einer Verlängerung der Kontraktionsdauer (mit verzögerter Anstiegs- und Erschlaffungsphase) und
3. vereinzelt zu Extrasystolen. Bei Ba (nicht bei Sr) traten in Konzentrationen ab 5×10^{-2} M/l zusätzlich Kontrakturen auf.

In Ca-Abwesenheit ergab sich bei MSV und KT in Gegenwart von Sr und Ba folgendes:

1. Kontraktionen setzten nach Kontraktionsverlust durch Ca-Entzug wieder ein, d.h. Sr und Ba konnten Ca in Bezug auf das Auftreten von Kontraktionen teilweise ersetzen. Bei beiden Ionen kam es außerdem zu Kontrakturen, die bei Ba stärker ausgeprägt waren als bei Sr.
2. Die Kontraktionsdauer war im Vergleich zu den Kontrollen in Tyrodelösung verlängert, beim KT so ausgeprägt, daß die Präparate zum Teil nur noch auf jeden 3. - 10. elektrischen Reiz mit einer Kontraktion reagierten.

Mit Magnesium, Mangan, Nickel, Kobalt, Zink und Quecksilber wurden in Gegenwart von 1,8 mM/l Ca folgende Ergebnisse erzielt:

1. Sämtliche dieser Ionen wirkten dosisabhängig negativ inotrop. Für die Wirksamkeit ergab sich die Reihenfolge $Hg > Zn > Co > Ni > Mn > Mg$.
2. Kontrakturen traten nur bei Hg in einer Konzentration von 5×10^{-5} M/l auf.

Außer bei den hohen Konzentrationen von Zn und Hg waren alle Ionenwirkungen in normaler Tyrodelösung reversibel. In Ca-Abwesenheit ergaben sich folgende Verhältnisse:

1. Bei keinem dieser Ionen setzten die durch Ca-Entzug unterdrückten Kontraktionen wieder ein, d.h. keines dieser Ionen konnte Ca bei der Auslösung von Kontraktionen ersetzen.
2. Zu Kontrakturen verschieden starken Ausmaßes kam es bei Mn, Ni, Co und Hg, jedoch nicht bei Mg und Zn. Regelrechte Kontraktionsverhältnisse stellten sich in normaler Tyrodelösung in Phase III nach Mn, Mg, Ni und

Co wieder ein. Ein Kontraktionsverlust blieb nach Zn und Hg bestehen.

Im folgenden werden die eigenen Ergebnisse im Zusammenhang mit bereits bekannten Befunden aus der Literatur besprochen.

Strontium

Schon in früheren Untersuchungen wurde gezeigt, daß Sr in Ca-haltiger Lösung am Rattenvorhof (KLEINFELD u. STEIN, 1968) und am Katzenpapillarmuskel (GARB, 1951) positiv inotrop wirkt. Weiterhin wurde festgestellt, daß sich auch Präparate, die durch Ca-Entzug zum Stillstand gebracht worden waren, nach Zusatz von Sr auch in Ca-freier Lösung wieder kontrahierten. Das gilt für das Froschherz (WEYNE, 1966 a; RINGER, 1883; THOMAS, 1957; GUILBAULT u. Mitarb., 1963), das Krötenherz (NAYLER, 1965), den Rattenvorhof (KLEINFELD u. STEIN, 1968) und das Katzenherz (WEYNE, 1966; HEMPTINNE u. WEYNE, 1967 a,b; HEMPTINNE u. Mitarb., 1967). Gleiches fanden HOTTA (1968) und SPERELAKIS (1963) bei glatter Muskulatur und ZETT u. KÜCHLER (1969) am Skelettmuskel des Frosches. Im Gegensatz dazu ergaben die Versuche von NAYLER u. EMERY (1962), daß in Ca-freier Lösung, die zusätzlich 4 mM/l EDTA enthielt, der Kontraktionsstillstand durch Zusatz von Sr nicht rückgängig gemacht werden konnte, sondern nur eine deutlich ausgeprägte Kontraktur entstand. Sr ermöglichte in Ca-freier Lösung nur dann Kontraktionen, wenn die Präparate nicht mit EDTA vorbehandelt wurden, oder wenn zwischen EDTA-Behandlung und Sr-Einwirkung eine Spülphase mit Ca-haltiger Lösung eingeschoben wurde. Daraus schlossen NAYLER u. EMERY (1962), daß Sr in völliger Ca-Abwesenheit keinen regelrechten Kontraktions-Erschlaffungs-Zyklus aufrecht erhalten kann. Der Unterschied zu den eigenen Versuchen, in denen sich auch EGTA-vorbehandelte Präparate in Ca-freier, Sr-haltiger Lösung kontrahierten, könnte daran liegen, daß in den eigenen Versuchen die EGTA-Konzentration mit 5×10^{-2} mM/l deutlich

unter der von NAYLER u. EMERY (1962) verwendeten Konzentration (4 mM/l) lag. Möglicherweise ist der Unterschied aber auch dadurch zu erklären, daß EDTA nicht so spezifisch Ca bindet wie EGTA (PORTZEHL u. Mitarb., 1964).

Zur Deutung der positiv inotropen Wirkung des Sr lassen sich folgende Befunde aus der Literatur entnehmen. WEYNE (1966) vermutete als eine mögliche Ursache die in Gegenwart von Sr aufgetretene Verlängerung der Kontraktionsdauer, die auch von anderen Arbeitsgruppen beobachtet wurde (GARB, 1951; CORABOEUF u. Mitarb., 1961; GUILBAULT u. Mitarb., 1963; HEMPTINNE u. WEYNE, 1967; BRUTSAERT, 1967; HEMPTINNE u. Mitarb., 1967). Eine weitere Ursache der positiv inotropen Wirkung könnte die durch Sr bewirkte Freisetzung von Ca aus dem sarkoplasmatischen Retikulum sein (FRANK, 1962). Darauf deutet hin, daß K^+ -Depolarisationen am Skelettmuskel (EDWARDS u. Mitarb., 1966; LORKOVIC, 1967) und am Krötenventrikel (NAYLER, 1965) in Ca-freier, Sr-haltiger Lösung nur dann zu Kontrakturen führten, wenn nicht vorher die Ca-Speicher durch wiederholte Coffein-Behandlung entleert worden waren (FRANK, 1962).

Ein Ca-Ersatz durch Sr wäre denkbar an den bioelektrischen Membranvorgängen, am SR sowie an den kontraktilen Proteinen. Die Möglichkeit, Ca in diesen Punkten durch Sr zu ersetzen, wurde verschiedentlich untersucht. Veränderungen des RP und des AP, die durch Ca-Entzug am Herzmuskel auftraten, waren bei Sr-Zusatz reversibel bis auf die weiterhin bestehenbleibende Verlängerung der AP-Dauer (HEMPTINNE u. WEYNE, 1967 a). Andererseits ist Sr nach Ergebnissen von NAYLER u. EMERY (1962) und NAYLER (1965) nicht in der Lage, nach Ca-Entzug durch EDTA das RP wieder herzustellen.

Offenbar kann Sr aber auch selbst wie Ca während der Erregung in die Zelle eindringen. Möglicherweise sind also außer der Zellmembran noch andere Angriffspunkte des Sr vorhanden, und zwar intrazellulär. Diese Hypothese wird

dadurch unterstützt, daß auch intrazelluläre Injektionen von Sr Kontraktionen auslösten (CALDWELL u. WALSTER, 1963). Dabei besteht prinzipiell die Möglichkeit, daß Sr erstens indirekt durch Ca-Freisetzung aus dem SR wirkt, oder daß Sr zweitens direkt die kontraktilen Proteine aktiviert. Eine Freisetzung des Ca aus dem SR kann auf Grund der Versuche mit K^+ -Kontrakturen unter Coffeineinwirkung angenommen werden (s.o.). Da Sr selbst auch vom SR aktiv gespeichert werden kann (Herz: NAYLER, 1965; Skelettmuskel: EDWARDS u. Mitarb., 1966) und für Ca und Sr der gleiche Bindungsmechanismus angenommen wird (NAGAI u. Mitarb., 1965), könnte es sich um eine kompetitive Verdrängung des Ca durch Sr handeln, die zu einer Steigerung der $[Ca]_i$ und damit zur Kontraktion führt. Außerdem besteht auch ein direkter Einfluß des Sr auf die kontraktilen Proteine in dem Sinne, daß Sr die myofibrilläre ATPase aktiviert (EDWARDS u. Mitarb., 1966; SEIDEL u. GERGELY, 1963).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die in den vorliegenden Versuchen festgestellte positiv inotrope Wirkung des Sr eventuell auf der Verlängerung der Kontraktionsdauer beruht. Daß in Ca-freier, Sr-haltiger Lösung Kontraktionen und Kontrakturen auftraten, lag möglicherweise daran, daß Sr die kontraktilen Proteine aktivierte und Ca aus dem SR freisetzte. Zu Kontrakturen besonders bei 7,2 mM/l Sr kam es vermutlich deswegen, weil die Speicherfähigkeit des SR für Sr 20 mal kleiner ist als die für Ca (EDWARDS u. Mitarb., 1966).

Barium. Bei früheren Untersuchungen konnte auch für Ba gezeigt werden, daß es am Rattenvorhof positiv inotrop wirkt (KLEINFELD u. Mitarb., 1966; KLEINFELD u. STEIN, 1968). Weiterhin ist bekannt, daß Krötenherzen, die durch Ca-Entzug zum Stillstand gebracht worden waren, sich nach Ba-Zusatz in Ca-freier Lösung wieder kontrahierten (NAYLER, 1965).

KLEINFELD u. Mitarb. (1966) und KLEINFELD u. STEIN (1968) fanden jedoch, daß am Rattenvorhof ein Kontraktionsstillstand unter Ba-Einwirkung nicht reversibel war.

Zur Erklärung der positiv inotropen Wirkung des Ba lassen sich der Literatur folgende Befunde entnehmen. Indirekt könnte Ba über eine Erhöhung der $[Ca]_i$ wirken. Dafür spricht eventuell die von KLEINFELD u. Mitarb. (1966) und von KLEINFELD u. STEIN (1968) beobachtete Verlängerung der AP-Dauer, die möglicherweise Ausdruck eines erhöhten Ca-Einstroms ist. Die Verlängerung des AP wird jedoch von dieser Arbeitsgruppe selbst nicht als eigentliche Ursache der positiv inotropen Wirkung angesehen (KLEINFELD u. STEIN, 1968), sondern es wird eher ein direkter Einfluß des Ba auf die kontraktilen Proteine vermutet (KLEINFELD u. Mitarb., 1966). Eine zweite Möglichkeit, die $[Ca]_i$ zu erhöhen, besteht darin, daß die Ca-Freisetzung aus dem SR gefördert wird. Darauf deutet hin, daß K^+ -Depolarisationen am Krötenherzen (NAYLER, 1967) in Ca-freier, Ba-haltiger Lösung nur dann zu Kontraktionen führten, wenn nicht vorher die Ca-Speicher durch wiederholte Coffeinbehandlung entleert worden waren (EDWARDS u. Mitarb., 1966).

Zur Möglichkeit des Ca-Ersatzes in der EMK ergeben sich folgende Gesichtspunkte. Ba bewirkt am Warmblüterherzen eine Abnahme des RP (KLEINFELD u. Mitarb., 1966) bis zur völligen Unerregbarkeit (ANTONI u. OBERDISSE, 1965). Da aber Ba trotz einer Verminderung des RP positiv inotrop wirkt und in Ca-freier, Ba-haltiger Lösung Kontraktionen möglich sind, muß noch ein weiterer, intrazellulärer Angriffspunkt des Ba bestehen.

Intrazelluläre Injektionen von Ba führten zu Kontraktionen (HEILBRUNN u. WIERCINSKI, 1947; CALDWELL u. WALSTER, 1963). Intrazellulär könnte Ba die $[Ca]_i$ durch eine Wirkung am SR erhöhen. Aus dem zeitlichen Verlauf der Ca-Abgabe des Herzmuskels schloß NAYLER (1965), daß unter der Einwirkung

von Ba am Herzmuskel nicht nur oberflächlich gebundenes Ca, sondern auch Ca aus dem SR freigesetzt wird. Auf eine erhöhte Ca-Freisetzung aus dem SR weisen auch die Reaktionen des Skelettmuskels auf K^+ -Depolarisationen mit und ohne Coffeinvorbehandlung hin (s.o.) und die für den Herzmuskel (NAYLER, 1965) wie auch für den Skelettmuskel (ZETT u. KÜCHLER, 1969) nachgewiesene Ca-Verarmung der Zelle. Über die Beeinflussung der kontraktilen Proteine bestehen widersprüchliche Angaben. Ba läßt die ATPase-Aktivität Ca-freier Myofibrillen unverändert (SEIDEL u. GERGELY, 1963) und bewirkt auch an Skelettmuskelmikrosomen fast keine ATP-Spaltung (NAGAI u. Mitarb., 1965). Demgegenüber vermuten jedoch YUKISADA u. EBASHI (1961) für den glatten Muskel und KLEINFELD u. Mitarb. (1966) für den Rattenvorhof einen direkten Angriff des Ba auf die kontraktilen Proteine, wobei auf den Wirkungsmechanismus nicht eingegangen wurde.

Auch die eigenen Versuchsergebnisse lassen sich möglicherweise erklären durch eine Ba-bedingte Erhöhung der $[Ca]_i$ und eine direkte Ba-Wirkung auf die kontraktilen Proteine. Die verlängerte Kontraktionsdauer und die Kontrakturen könnten dadurch bedingt sein, daß Ba die Ca-Aufnahme in das SR hemmt und daß das SR gleichzeitig nur eine geringe Speicherfähigkeit für Ba besitzt (NAGAI u. Mitarb., 1965). Die Extrasystolen beruhen eventuell darauf, daß die Arbeitsmuskulatur unter der Einwirkung von Ba die Eigenschaften von Schrittmacherfasern annimmt (ANTONI u. OBERDISSE, 1965).

Magnesium. Mg ist im Gegensatz zu den anderen negativ inotrop wirkenden Ionen ein "physiologisches" Ion (NAYLER, 1965), das normalerweise in einer bestimmten Konzentration extra- und intrazellulär vorkommt und in den Kontraktions-Erschlaffungs-Zyklus der Muskelzelle eingreift. So wird z.B. für die Ca-Aufnahme in das SR des Herzmuskels (CARSTEN, 1967) und des Skelettmuskels (INESI, 1964; MARTONOSI u. FERETOS, 1964) außer ATP auch Mg benötigt. Wenn die

physiologische Konzentration von Mg überschritten wird, wirkt es in Ca-haltiger Lösung am Herzen negativ chronotrop (SCHAER, 1968) und negativ inotrop (SURAWICZ u. Mitarb., 1961; KLEINFELD u. STEIN, 1968) bis zum Stillstand der Kontraktion (MATHEW u. JACKSON, 1907).

In Ca-freier Lösung kann Mg den durch Ca-Entzug entstandenen Kontraktionsstillstand weder am glatten Muskel (SPERELAKIS, 1963) noch am Herzmuskel (NAYLER, 1965) rückgängig machen. KÜCHLER u. ZETT (1967) stellten das gleiche für den Skelettmuskel fest. Andere Autoren berichten jedoch von einer vorübergehenden geringen mechanischen Aktivität unter Mg-Einfluß in Form von Kontraktionen (LÜTTGAU, 1963) oder K^+ -induzierten (PORTZEHL u. Mitarb., 1964; LORKOVIC, 1967) bzw. Coffein-induzierten (KÜCHLER u. ZETT, 1967) Kontraktionen.

Negativ inotrop wirkt Mg möglicherweise aus folgenden Gründen. Zunächst beeinflußt Mg die bioelektrischen Vorgänge an der Zellmembran. Mg konkurriert an der Skelettmuskelmembran mit Na um den Na-Carrier (SURAWICZ u. Mitarb., 1961). Die verminderte Na-Leitfähigkeit der Membran (CONSTANTIN, 1968) ist vermutlich eine Folge davon. CARVALHO (1963) vermutete, daß Mg Na und Ca von ihren Rezeptorstellen an der Zellmembran verdrängt und wies für den gleichen Befund an den Mikrosomen der Skelettmuskelzelle einen kompetitiven Mechanismus nach (CARVALHO, 1966). Das wird auch durch die Tatsache unterstützt, daß die durch Mg bewirkten Veränderungen am Herzmuskel besonders deutlich werden bei Ca- und Na-Konzentrationen, die unter dem physiologischen Normalwert liegen (HOFFMAN u. SUCKLING, 1956; SCHAER, 1968). Nach den Vorstellungen von LÜTTGAU (1968) müßte eine Blockade des Rezeptors für Ca und Na einen verminderten Einstrom des für die Herzmuskelkontraktion wesentlichen Ca und damit eine Abnahme der Kontraktionskraft zur Folge haben.

In Ca-freier Lösung zeigt sich, daß die durch Ca-Entzug bedingte Depolarisation auch nach Zusatz von Mg bestehen bleibt (KÜCHLER u. ZETT, 1967). Auch intrazellulär injiziert vermag Mg keine Kontraktionen auszulösen (HEILBRUNN u. WIERCINSKI, 1947; CALDWELL u. WALSTER, 1963). Die dennoch vorübergehend aufgetretenen Kontraktionen des Skelettmuskels beruhen möglicherweise auf der Verdrängung des Ca aus den intrazellulären Bindungsstellen (CARVALHO, 1966); denn bei leeren Ca-Speichern kommt es unter Mg-Einwirkung nicht zu Kontrakturen (EDWARDS u. Mitarb., 1966; KÜCHLER u. ZETT, 1967).

Auch in den eigenen Versuchen ist der negativ inotrope Effekt des Mg erst deutlich bei Konzentrationen, die über dem physiologischen Wert liegen. Obwohl eine initiale Steigerung der Kontraktilität nicht beobachtet werden konnte, läßt sich die negativ inotrope Wirkung des Mg vermutlich auf die kompetetive Verdrängung des Ca an der Zellmembran und am SR zurückführen. In Ca-freier Lösung kann Mg die kontraktile Proteine nicht aktivieren (WEBER u. HERZ, 1961). Darauf beruht wahrscheinlich die Tatsache, daß Mg allein einen Kontraktions-Erschlaffungs-Zyklus nicht aufrecht erhalten kann, obwohl es unter normalen Bedingungen bei der Kontraktionsauslösung unentbehrlich ist.

Mangan. Über die Wirkung des Mn auf die Kontraktilität verschiedener Muskelpräparate lassen sich der Literatur folgende Angaben entnehmen. Mn wirkt am Rattenvorhof negativ inotrop (KLEINFELD u. STEIN, 1968). In Ca-freier, Mn-haltiger Lösung zeigte sich ein unterschiedliches Verhalten bei glatter Muskulatur und bei Skelettmuskulatur; während beim glatten Muskel die Spontanaktivität sank und keine K^+ -induzierten Kontrakturen mehr möglich waren (HOTTA u. TSUKUI, 1968), traten unter den gleichen Bedingungen am Skelettmuskel K^+ -induzierte (FRANK, 1962; LORKOVIC, 1967)

bzw. Coffein-induzierte (EDWARDS u. Mitarb., 1966) Kontraktionen auf.

Zum Wirkungsmechanismus läßt sich folgendes sagen. Der für die Kontraktion der Herzmuskulatur wesentliche Ca-Einstrom während der Depolarisationsphase wird durch Mn selektiv gehemmt (ROUGIER u. Mitarb., 1968; HAGIWARA u. NAKAJIMA, 1966). Da eine Steigerung des Ca-Einstroms mit einer Zunahme der Kontraktionskraft einhergeht (REUTER u. SCHOLZ, 1968), könnte eine Hemmung des Ca-Einstroms für die negativ inotrope Wirkung des Mn verantwortlich gemacht werden. KLEINFELD u. STEIN (1968) vermuten jedoch als Ursache der Mn-Wirkung eine Inaktivierung der Myofibrillen-ATPase oder eine verminderte Ca-Freisetzung aus dem SR. Der ersten Vermutung widersprechen folgende Befunde: SEIDEL u. GERGELY (1963) konnten nachweisen, daß Mn die Myofibrillen-ATPase in Ca-freier Lösung teilweise reaktiviert; und MARUYAMA u. GERGELY (1962) fanden, daß Mn eine, wenn auch geringe ATP-Spaltung bewirkt. Die zweite Vermutung, d.h. eine durch Mn verminderte Ca-Freisetzung aus dem SR, wird dadurch unterstützt, daß Mn-Injektionen in vivo am Rattenherzen zu einer erhöhten Aufnahme von ^{45}Ca in die Mikrosomenfraktion führten (CONRAD u. BAXTER, 1963).

Die negativ inotrope Wirkung von Mn am MSV kann also möglicherweise mit einer Verminderung des Ca-Einstroms während der Erregung erklärt werden. Daß in Ca-freier Lösung in Gegenwart von Mn keine Verkürzungen des Herzmuskels auftraten, läßt den Schluß zu, daß auch intrazellulär Ca bei der Auslösung der Kontraktion durch Mn nicht ersetzt werden kann.

Nickel und Kobalt. Auf Grund ihrer in vielen Punkten übereinstimmenden Wirkung sollen Ni und Co zusammen diskutiert werden. Am Meerschweinchenherzen ging eine initiale positiv inotrope Wirkung von Ni und Co in eine bleibende, negativ inotrope Wirkung über (KAUFMANN u. FLECKENSTEIN, 1965).

Am Rattenvorhof wirkten Ni und Co ebenfalls negativ inotrop (KLEINFELD u. STEIN, 1968). In Ca-freier Lösung waren am Skelettmuskel des Frosches in Anwesenheit von Ni oder Co K^+ -induzierte Kontraktionen möglich (FRANK, 1962; FISHMAN u. SWAN, 1967). An verschiedenen Herzmuskelpräparaten (KAUFMANN u. FLECKENSTEIN, 1965; NAYLER, 1965; KLEINFELD u. STEIN, 1968) sowie an isolierten Myofibrillen des Skelettmuskels (FISHMAN u. SWAN, 1967) ließ sich der durch Ca-Entzug entstandene Kontraktionsstillstand durch Ni- oder Co-Zusatz jedoch nicht rückgängig machen.

KAUFMANN u. FLECKENSTEIN (1965) versuchten die negativ inotrope Wirkung von Ni und Co damit zu erklären, daß die beiden Ionen zu Ca-bindenden Strukturen eine größere Affinität haben sollen als Ca selbst, was sie aus einer sehr langen Ausspülzeit schlossen. Tatsächlich ist auch die Dissoziationskonstante von Ni-Phospholipid-Komplexen signifikant kleiner als die von den entsprechenden Mg- und Ca-Verbindungen (HENDRICKSON u. FULLINGTON, 1965).

KAUFMANN u. FLECKENSTEIN (1965) sprechen von einer "spezifischen" Funktion des Ca bei der Kontraktion der kontraktilen Proteine und von einer "unspezifischen" Funktion des Ca bei den bioelektrischen Vorgängen an der Membran. Intrazellulär führt eine Verdrängung des Ca von den Bindungsstellen durch Ni oder Co zu einer vorübergehenden Erhöhung der $[Ca]_i$ und somit zu der beobachteten initialen Kontraktionssteigerung. Da Ni und Co die "spezifische" Ca-Funktion jedoch nicht übernehmen können, wirken sie im weiteren Verlauf negativ inotrop.

Die eigenen Befunde lassen sich möglicherweise in gleicher Weise erklären. Die geringen Kontraktionen, die in Ca-freier Lösung unter der Einwirkung von Ni und Co auftraten, beruhen wahrscheinlich auf einer durch diese Ionen bewirkten Ca-Freisetzung aus dem SR (EDWARDS u. Mitarb., 1966).

Zink. Die inotrope Wirkung des Zn scheint abhängig zu sein von der Art des Präparates. So wirkt Zn am Skelettmuskel positiv inotrop (ISAACSON u. SANDOW, 1961, 1963; SANDOW u. BIEN, 1962; SANDOW u. Mitarb., 1964; MASHIMO u. WASHIO, 1964, 1965; SANDOW u. ISAACSON, 1966; CARVALHO, 1968) und am Herzmuskel (JÄGER, 1931; CIOFALO u. THOMAS, jr., 1965; KLEINFELD u. STEIN, 1968) negativ inotrop. In Ca-freier, Zn-haltiger Lösung kam es beim Skelettmuskel von Amphibien zu Coffein- (LORKOVIC, 1967) bzw. zu K^+ -Kontrakturen (FRANK, 1962). Unter den gleichen Bedingungen blieb jedoch der Kontraktionsstillstand am Herzmuskel bestehen (NAYLER, 1967).

Zur Erklärung der eigenen Ergebnisse läßt sich folgendes sagen. Aus elektrophysiologischen Versuchen am Hundeherzen vermuteten KLEINFELD u. Mitarb. (1966) einen verminderten Ca-Einstrom aus dem Extrazellulärraum. Außerdem kommt es in Ca-haltiger Lösung am Herzmuskel unter Zn-Einwirkung intrazellulär zu einer Ca-Freisetzung (NAYLER, 1965) und zu einem Ca-Verlust der Zelle, der der Zn-Aufnahme proportional ist (CIOFALO u. THOMAS, jr., 1965). Der verminderte Ca-Einstrom und / oder der Ca-Verlust der Herzmuskelzelle sind möglicherweise die Ursache der negativ inotropen Wirkung des Zn. Über eine direkte Beeinflussung der kontraktilen Proteine des Herzmuskels liegen bisher keine Ergebnisse vor. Am Skelettmuskel jedoch beeinflusste Zn die kontraktilen Proteine negativ, indem es die ATPase-Aktivität hemmte (SEIDEL u. GERGELY, 1963; CARVALHO, 1968).

Die Tatsache, daß der durch Ca-Entzug bewirkte Kontraktionsstillstand nach der Einwirkung von Zn selbst bei 4-facher Ca-Konzentration nicht reversibel ist, deckt sich mit Ergebnissen von CIOFALO u. THOMAS (1965). Dies und die sich nach Ca-Zusatz entwickelnde Kontraktur beruhen möglicherweise darauf, daß die Affinität des Zn zu den Ca-Bindungsstellen des SR sehr viel größer ist als die des Ca selbst (CARVALHO, 1966). Aus dem Ca-haltigen Außenmedium dringt Ca in die

Zelle ein, aktiviert die kontraktile Proteine, kann aber nicht vom SR gespeichert werden. Daraus resultiert die ständig zunehmende Kontraktur.

Quecksilber. In Ca-haltiger Lösung wirkt Hg am Rattenvorhof negativ inotrop; außerdem ist ein durch Ca-Entzug bewirkter Kontraktionsstillstand in Ca-freier Lösung durch Hg-Zusatz nicht reversibel (KLEINFELD u. STEIN, 1968). KLEINFELD u. STEIN (1968) versuchten ihre Ergebnisse damit zu erklären, daß Hg die für die Kontraktion wichtigen SH-Gruppen der kontraktile Proteine chelatisiert und damit eine Kontraktion verhindert. Diese Hypothese wird durch die Befunde unterstützt, daß Hg durch die Blockade der SH-Gruppen die Verbindung von Actin und Myosin hemmt und somit die Viskosität von Actomyosinlösungen herabsetzt (KUSCHINSKY u. TURBA, 1951; TURBA u. KUSCHINSKY, 1952). Hg bewirkt jedoch auch Veränderungen an der Zellmembran. Nach PASSOW u. Mitarb. (1961) reagiert Hg hier mit SH- und Phosphoryl-Gruppen. Die Bindung von Hg an die SH-Gruppen hat zur Folge, daß die Permeabilität der Membran z.B. für K^+ verändert wird (PASSOW u. Mitarb., 1961). Aus elektrophysiologischen Versuchen am Hundeherzen schlossen KLEINFELD u. Mitarb. (1966) außerdem auf eine Hg-bedingte Blockade des Ca-Einstroms während der Depolarisation. KLEINFELD u. Mitarb. (1964) fanden weiterhin am Herzmuskel des Schweines ein Abnahme der AP-Amplitude, die sie auf eine Hg-induzierte Blockade auch des Na-Einstroms zurückführten.

Zur Deutung der eigenen Versuchsergebnisse kann also gesagt werden, daß Hg am Herzmuskel möglicherweise deswegen negativ inotrop wirkt, weil es den Ca-Einstrom während der Erregung reduziert und / oder die für die Kontraktion wichtigen SH-Gruppen der kontraktile Proteine blockiert. Dadurch könnte auch die fehlende Hg-Wirkung in Ca-freier Lösung erklärt werden. Die schon bei niedriger Hg-Konzentration

(ab 5×10^{-5} M) in Ca-haltiger und in Ca-freier Lösung auftretenden Kontrakturen beruhen möglicherweise auf dem im Vergleich zur Skelettmuskulatur hohen ATP-Bedürfnis der Herzmuskulatur (CARSTEN, 1967), sowie im Zusammenhang damit, auf einer durch Hg bedingten Verminderung der zellulären Glukose-Aufnahme (PASSOW u. Mitarb., 1961; HOFFMAN, 1962), die zu einer unzureichenden Regeneration der energiereichen Phosphate und damit zu einem Mangel an "Weichmacher" führen könnten. Irreversibel sind die Veränderungen am Herzmuskel eventuell deswegen, weil außer der verminderten Glukose-Aufnahme, die sich jedoch nach Hg-Entzug wieder normalisierte, auch eine Hemmung der Atmungskette der Mitochondrien beobachtet wurde, die nach Hg-Entzug weiter bestehen blieb (DEMIS u. ROTHSTEIN, 1955).

F. ZUSAMMENFASSUNG

An isolierten, elektrisch gereizten linken Meerschweinchen-vorhöfen wurde in Ca-haltiger Badlösung die inotrope Wirkung der zweiwertigen Ionen Sr, Ba, Mg, Mn, Ni, Co, Zn und Hg untersucht. Sr und Ba wirkten positiv, Mg, Mn, Ni, Co, Zn und Hg dagegen negativ inotrop. Alle Effekte waren konzentrationsabhängig. Außerdem wurde für alle Ionen am Meerschweinchenvorhof geprüft, ob ein durch Ca-Entzug bedingter Kontraktionsstillstand in Gegenwart dieser Ionen aufzuheben ist. Dabei ergab sich, daß unter der Einwirkung von Sr und Ba auch in Ca-freier Lösung wieder Kontraktionen einsetzten. Bei den übrigen Ionen blieb der Kontraktionsstillstand bestehen, der jedoch nur bei Zn und Hg auch nach Ausspülen der untersuchten Ionen irreversibel war.

Auch an ventrikulären Kalbstrabekeln waren in Ca-freier Lösung nur in Gegenwart von Sr und Ba, aber nicht von Mg und Mn Kontraktionen auslösbar.

In der Diskussion wurden die Angriffspunkte der untersuchten Ionen im einzelnen diskutiert. Aus den Versuchsergebnissen wurde geschlossen, daß auch am Warmblüterherzen bei der Auslösung der Kontraktion Ca nur durch Sr und Ba teilweise zu ersetzen ist.

G. LITERATURVERZEICHNIS

- ANTONI, H. und E. OBERDISSE: Elektrophysiologische Untersuchungen über die Ba-induzierte Schrittmacheraktivität am Säugetiermyokard. Pflügers Arch.ges.Physiol. 284, 259-272 (1965)
- BRUTSAERT, D.L.: Frequency potentiation and paired stimulation potentiation of cat papillary muscle in calcium and strontium containing media. Arch.int.Physiol. Biochim. 75, 229-244 (1967)
- CALDWELL, P.C. and G. WALSTER: Studies of micro-injection of various substances into crab muscle fibres. J.Physiol. (Lond.) 169, 353-372 (1963)
- CARSTEN, M.E.: Cardiac sarcotubular vesicles. Effect of ions, ouabain, and acetylcholinesterase inhibitors. Circulat.Res. 20, 599-605 (1967)
- CARVALHO, A.P.: Calcium and magnesium binding properties of cell membrane materials. J.cell.comp.Physiol. 62, 311-317 (1963)
- CARVALHO, A.P.: Binding of cations by microsomes from rabbit skeletal muscle. J.cell.comp.Physiol. 67, 73-84 (1966)
- CARVALHO, A.P.: Effect of potentiators of muscular contraction on binding of cations by sarcoplasmic reticulum. J.gen.Physiol. 51, 427-442 (1968)
- CIOFALO, F.R. and L.J. THOMAS, jr.: The effects of zinc on contractility, membrane potentials, and cation content of rat atria. J.gen.Physiol. 48, 825-839 (1965)
- CONRAD, L.L. and D.J. BAXTER: Effect of Mn on QT-interval and distribution of Ca in rat heart. Amer.J.Physiol. 205, 1209-1212 (1963)

- CONSTANTIN, L.L.: The effect of Ca on contraction and conductance threshold in frog skeletal muscle. J.Physiol. (Lond.) 195, 119-132 (1968)
- CORABOEUF, E., P. GUILBAULT, D. BRETON et M. DUMONT: Action des ions strontium sur le coeur isolé de Rat et de Cobaye. C.R. Soc.Biol., Paris 155, 1251-1257 (1961)
- DEJIS, D.J. and M. RUTHSTEIN: Relationship of cell surface to metabolism. XII. Effects of mercury and copper on glucose uptake and respiration of rat diaphragma. Amer.J.Physiol. 180, 566-574 (1955)
- EBASHI, S. and M. ENDU: Calcium ion and muscle contraction. Progr.Biophys.Mol.Biol. 18, 123-183 (1968)
- EDWARDS, Ch., H. LORKOVIC and A. WEBER: The effect of the replacement of Ca by Sr on the excitation contraction coupling in frog skeletal muscle. J.Physiol. (Lond.) 186, 295-306 (1966)
- FISHMAN, D.A. and R.C. SWAN: Nickel-substitution for calcium in excitation-contraction coupling of skeletal muscle. J.gen.Physiol. 50, 1709-1728 (1967)
- FRANK, G.B.: Utilization of bound calcium in the action of caffeine and certain multivalent cations on skeletal muscle. J.Physiol. (Lond.) 163, 254-268 (1962)
- GARB, S.: The effects of potassium, ammonium, calcium, strontium and magnesium on the electrogram and myogram of mammalian heart muscle. J.Pharmacol.exp.Ther. 101, 317-326 (1951)
- GERTZ, E.W., M.L. HESS, R.F. LAIM and F.N. BRIGGS: Activity of the vesicular calcium pump in the spontaneously failing heart-lung preparation. Circulat.Res. 20, 477-484 (1967)

- GUILBAULT, P., E. CORABCEUF et Y. PADEL: Effet d'ions anormaux sur le mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de Roussette. C.R.Soc.Biol. Paris 157, 1378-1383 (1963)
- HAGIWARA, S. and S. NAKAJIMA: Differences in sodium and calcium spikes as examined by application of tetrodotoxin, procaine, and manganese ions. J.gen.Physiol. 49, 793-806 (1966)
- HASSELBACH, W. und H.H. WEBER: Die intrazelluläre Regulation der Muskelaktivität. Naturwissenschaften 52, 121-128 (1965)
- HEILBRUNN, L.V. and F.J. WIERCINSKI: The action of various cations on muscle protoplasm. J.cell.comp.Physiol. 29, 15-32 (1947)
- HEMPTINNE, A. de and J. WEYNE: The influence of strontium on the electrical activity of the cat papillary muscle and Purkinje fibres of sheep heart. Arch.int.Pharmacodyn. 165, 494-503 (1967a)
- HEMPTINNE, A. de and J. WEYNE: Dynamic parameters of myocardial contractility under the influence of calcium and strontium. Arch.int.Pharmacodyn. 166, 184-187 (1967b)
- HEMPTINNE, A. de, J. WEYNE and J. LEUSEN: Dynamic parameters of myocardial contractility under the influence of calcium and strontium. Arch.int.Physiol.Biochim. 75, 96-108 (1967)
- HENDRICKSON, H.S. and J.G. FULLINGTON: Stabilities of metal complexes of phospholipids: Ca(II), Mg(II), Ni(II) complexes of phosphatidylserine and triphosphoinositide. Biochemistry 4, 1599-1605 (1965)
- HOFFMAN, J.F.: Cation transport and structure of red-cell plasma membrane. Circulat.Res. 26, 1201-1213 (1962)

- HOFFMAN, B.F. and E.E. SUCKLING: Effect of several cations on transmembrane potentials of cardiac muscle. Amer.J. Physiol. 186, 317-324 (1956)
- HOTTA, Y. and R. TSUKUI: Effect on the guinea-pig taenia coli of the substitution of strontium or barium ions for calcium ions. Nature 217, 867-869 (1968)
- INESI, G., S. EBASHI and S. WATANABE: Preparation of vesicular relaxing factor from bovine heart tissue. Amer. J.Physiol. 207, 1339-1344 (1964)
- ISAACSON, A. and A. SANDOW: Potentiation of contraction by zinc. Fed.Proc. 20, 301 (1961)
- ISAACSON, A. and A. SANDOW: Effects of zinc on responses of skeletal muscle. J.gen.Physiol. 46, 655-677 (1963)
- JÄGER, H.: Über Zinkwirkungen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.Path.Pharmakol. 159, 139-153 (1931)
- JANDER, G., K.F. JAHR und H. KNOLL: Maßanalyse. Sammlung Göschen Band 221/221a. Berlin: Walter de Gruyter u. Co. (1963)
- KAUFMANN, R. und A. FLECKENSTEIN: Ca^{2+} -kompetetive elektro-mechanische Entkoppelung durch Ni^{2+} - und Co^{2+} -Ionen am Warmblütermyokard. Pflügers Arch.ges.Physiol. 282, 290-297 (1965)
- KLEINFELD, M. and E. STEIN: Action of divalent cations on membrane potentials and contractility in rat atrium. Amer.J.Physiol. 215, 593-599 (1968)
- KLEINFELD, M., E. STEIN and D. AGUILLARDO: Divalent cations on action potential of dog heart. Amer.J.Physiol. 211, 1438-1442 (1966)
- KLEINFELD, M., E. STEIN and B. MURPHEY: Parachloromercurybenzoate on action potential of Purkinje and ventricular fibres of hog heart. Amer.J.Physiol. 206, 975-979 (1964)

- KLEINFELD, M., E. STEIN and C. TIONAYTIS: Effect of barium ion on mature and embryonic heart cells. *Circulat.Res.* 18, 484-491 (1966)
- KÜCHLER, G. und L. ZETT: Die Bedeutung des Calciums bei der Koffeinkontraktur. *Acta biol.med.germ.* 18, 683-694 (1967)
- KUSCHINSKY, G. und H. LANGECKER: Über die merkurimetrische Bestimmung des Chlorids im Harn. *Biochem.Zeitschrift* 318, 164-166 (1948)
- KUSCHINSKY, G. und F. TURBA: Über die Rolle der SH-Gruppen bei Vorgängen an Aktomyosin, Myosin und Aktin. *Biochim.Biophys.Acta* 6, 426-433 (1951)
- LANGER, G.A.: Ion fluxes in cardiac excitation and their relation to myocardial contractility. *Physiol.Rev.* 48, 708-757 (1968)
- LORKOVIC, H.: Effects of some divalent cations on frog twitch muscle. *Amer.J.Physiol.* 212, 623-628 (1967)
- LÜTTGAU, H. Ch.: Nerven- und Muskel-Elektrophysiologie. *Fortschr.Zool.* 17, 272-312 (1965)
- LÜTTGAU, H. Ch.: Die Bedeutung der Ca-Ionen für die elektromechanische Koppelung. In: *Herzinsuffizienz*. Ed: H. Reindell, J. Keul und E. Doll. S. 88-93. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1968
- MARTONOSI, A. and R. FERETOS: Sarcoplasmic reticulum. I. The uptake of Ca^{2+} by sarcoplasmic reticulum fragments. *J.Biol.Chem.* 239, 648-658 (1964)
- MARUYAMA, K. and J. GERGELY: Interaction of actomyosin with adenosine triphosphate at low ionic strength. II. Facts influencing clearing and superprecipitation: adenosine triphosphate and birefringence of flow studies. *J.Biol.Chem.* 237, 1100-1106 (1962)

- MASHIMO, H. and H. WASHIO: The effect of zinc on the electrical properties of membrane and twitch tension in frog muscle fibres. Jap.J.Physiol. 14, 538-550 (1964)
- MASHIMO, H. and H. WASHIO: Comparison of the twitch potentiation produced by anions and cations in frog skeletal muscle. In: Molecular biology of muscular contraction. Ed: Ebashi, S., F. Gosawa, T. Sekine and Y. Tonomura. S. 177-189. Tokyo: Ikagu Shoin Ltd. 1965
- MATHEW, S.A. and D.E. JACKSON: The action of magnesium sulphate upon the heart and the antagonistic action of some other drugs. Amer.J.Physiol. 14, 5-13 (1907)
- NAGAI, T., H. TAKAHASHI and M. TAKAUJI: On the accumulation of divalent cations by skeletal muscle microsomes. In: Molecular biology of muscular contraction. Ed: Ebashi, S., F. Gosawa, T. Sekine and Y. Tonomura. S. 169-176. Tokyo: Ikagu Shoin Ltd. 1965
- NAYLER, W.G.: Calcium and other divalent ions in contraction of cardiac muscle. In: Muscle. Ed: Paul, W.W., E.E. Daniel, C.M. Kay and G. Monckton. S. 167-184. London: Pergamon Press 1965
- NAYLER, W.G.: Calcium exchange in cardiac muscle: a basic mechanism of drug action. Amer.Heart J. 73, 379-394 (1967)
- NAYLER, W.G. and P.F. EMERY: Effect of strontium on cardiac contractility and membrane resting potential. Amer.J. Physiol. 203, 844-848 (1962)
- PASSOW, H., A. RUTHSTEIN and T.W. CLARKSON: The general pharmacology of the heavy metals. Pharmacol.Rev. 13, 185-224 (1961)

- PORTZEHL, H., P.C. CALDWELL and J.C. RUEGG: The dependence of contraction and relaxation of muscle fibres from the crab *Maia squinado* on the internal concentration of free calcium ions. *Biochim.Biophys. Acta* 79, 581-591 (1964)
- PORTZEHL, H., P. ZAORALEK and J. GAUDIN: The activation by Ca^{2+} of the ATPase of extracted muscle fibrils with variation of ionic strength, pH and concentration of MgATP. *Biochim.Biophys.Acta (Amst.)* 189, 440-448 (1969)
- REUTER, H. und H. SCHOLZ: Über den Einfluß der extrazellulären Ca-Konzentration auf Membranpotential und Kontraktion isolierter Herzpräparate bei graduierter Depolarisation. *Pflügers Arch.* 300, 87-107 (1968)
- RINGER, S.: A further contribution regarding the influence of different constituents of the blood on the contraction of the heart. *J.Physiol. (Lond.)* 4, 29-42 (1882/83)
- RUQUIER, G., G. VASSORT, D. GARNIER, Y.M. GARGUIL et E. CORABOEUF: Données nouvelles concernant le rôle des ions Na^+ et Ca^{++} sur les propriétés électrophysiologiques des membranes cardiaques; existence d'un canal lent. *C.R.Acad.Sc. (Paris)* 266, 802-805 (1968)
- SANDOW, A.: Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Pharmacol.Rev.* 17, 265-320 (1965)
- SANDOW, A. and S.M. BIEN: The blockade of neuromuscular transmission by zinc. *Nature* 193, 689-690 (1962)
- SANDOW, A. and A. ISAACSON: Topochemical factors in potentiation of contraction by heavy metal cations. *J.gen. Physiol.* 49, 937-961 (1966)
- SANDOW, A., S.R. TAYLOR, A. ISAACSON and J.J. SEGUIN: Electrochemical coupling in potentiation of muscular contraction. *Science* 143, 577-579 (1964)

- SCHAER, H.: Antagonistische Wirkung von Magnesium-, Calcium- und Natriumionen auf die Impulsbildung im Sinusknoten des Meerschweinchenherzens. Pflügers Arch. ges. Physiol. 298, 359-371 (1968)
- SEIDEL, J.C. and J. GERGELY: Studies of myofibrillar adenosine triphosphate with Ca-free ATP. I. The effect of EDTA, Ca, Mg and ATP. J. Biol. Chem. 238, 3648-3653 (1963)
- SNEDECOR, G.W.: Statistical methods. Ames, Iowa: The Iowa State College Press 1950
- SPERELAKIS, N.: Effect of Ba^{2+} upon excitation-contraction coupling in smooth muscle. Fed. Proc. 22, 461 (1963)
- SPERELAKIS, N., M.F. SCHNEIDER and E.J. HARRIS: Decreased K^{+} -conductance produced by Ba^{2+} in frog sartorius fibres. J. gen. Physiol. 50, 1165-1181 (1967)
- SURAWICZ, P., E. LEFESCHKIN and H.C. HERRLICH: Low and high magnesium concentrations at various calcium levels. Effect of Mg on the monophasic AP, electrocardiogram, and contractility of isolated rabbit muscle. Circulat. Res. 9, 811-818 (1961)
- THOMAS, L.J. jr.: Antagonism in the action of calcium and strontium ions on the frog's heart. J. cell. comp. Physiol. 50, 249-264 (1957)
- TURBA, F. und G. KUSCHINSKY: Über die Differenzierung der Sulfhydrylgruppen von Aktomyosin, Myosin und Aktin. Biochim. Biophys. Acta 8, 76-85 (1952)
- WEBER, A., R. HERZ and I. REISS: On the mechanism of the relaxing effect of fragmented sarcoplasmic reticulum. J. gen. Physiol. 46, 679-702 (1963)
- WEYNE, J.: Effect of strontium ions on heart muscle. I. Influence on contractility. Arch. int. Physiol. Biochem. 74, 449-460 (1966)

YUKISADA, N. and F. EBASHI: Role of calcium in drug action on smooth muscle. Jap.J.Pharmacol. 11, 46-53 (1961)

ZETT, L. und G. KÜCHLER: Einfluß von Strontium- und Barium-
ionen auf Membranpotential, Ionengehalt und Koffein-
kontraktur isolierter Froschmuskel. Acta biol.med.germ.
22, 105-115 (1969)

L E B E N S L A U F

Am 9. Juli 1946 wurde ich als erstes Kind des kaufmännischen Angestellten Günter Wandt und seiner Ehefrau Ottilie, geb. Runte in Wiesbaden geboren.

Nach der Volksschule besuchte ich die Helene-Lange-Schule in Wiesbaden und bestand dort am 19.2.1965 die Reifeprüfung. Im Sommersemester 1965 nahm ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz das Studium der Medizin auf und bestand hier am 28.3.1966 das Vorphysikum und am 4.10.1967 das Physikum. Nach einem klinischen Semester an der Leopold-Franzens-Universität in Innsbruck und Fortsetzung des Studiums an der Universität in Mainz beabsichtige ich, hier im Sommersemester 1970 das medizinische Staatsexamen abzulegen.

